Aus der Medizinischen Universitäts-Poliklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

ALTERUNGSABHÄNGIGE, STOFFWECHSELBEDINGTE VERÄNDERUNGEN IN ACD-KONSERVIERTEM BLUT BEI 4°C UND 37°C UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER PLASMA-LIPIDE

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Gerd Mülverstedt
aus Stendal/Altmark

Würzburg 1970

Aus der Medizinischen Universitäts-Poliklinik Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

ALTERUNGSABHÄNGIGE, STOFFWECHSELBEDINGTE VERÄNDERUNGEN IN ACD-KONSERVIERTEM BLUT BEI 4°C UND 37°C UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER PLASMA-LIPIDE

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Gerd Mülverstedt
aus Stendal/Altmark

Würzburg 1970

Referent: Priv.Doz. Dr. med. H. Haug
Korreferent: Professor Dr. med. H. Franke

Tag der Promotion:

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meinen Eltern

Inhalt:

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Komplikationen bei Bluttransfusionen	3
III.	1. Bisherige Untersuchungen über alterungsabhängige Veränderungen in ACD-Blut.	6
	2. Der Stoffwechsel der roten Blutzellen und Möglichkeiten zur Verbesserung der Konservierungsmethoden.	9
IV.	1. Material	14
	2. Methodik	16
	a. Bestimmung der Lipidfraktionen und des Hämoglobins im Plasma	
	b. Bestimmungen mit dem Autoanalyzer SMA 12	
V.	Ergebnisse	23
VI.	Diskussion	52
VII.	Zusammenfassung	55
VIII.	Literatur	58

I. Einleitung

In jedem Jahr werden in der Bundesrepublik Deutschland über 2,5 Millionen Blutkonserven hergestellt (21). Die Übertragung von Blut ist damit eines der häufiger angewandten therapeutischen Verfahren. Durch die Fortentwicklung der Techniken und Verfahren der Blutkonservierung und durch die immer feinere Differenzierung der Blutgruppen-Antigene werden heute die meisten Bluttransfusionen gut vertragen. Die Kenntnisse über biochemische Veränderungen im Verlauf der Alterung von konserviertem Blut sind gering und in der Literatur weit verstreut. Die Blutbanken sind zu einer beträchtlichen Lagerhaltung verpflichtet, um auch in Notfällen einsatzfähig zu sein. Deshalb hat man schon seit langem versucht, geeignete Stabilisatoren zu finden, durch die Blutzellen über eine möglichst lange Zeit am Leben zu erhalten sind. Heute sind Verfahren entwickelt worden, durch die Blut tiefgekühlt konserviert werden kann. Aber diese Techniken sind noch sehr aufwendig und damit zu teuer. In den heute gebräuchlichen flüssigen Stabilisatoren werden die Blutzellen bei $4^{o}C$ gelagert. Dadurch wird die Stoffwechselintensität der Blutzellen zwar sehr stark herabgesetzt, aber nicht aufgehoben.
Wie wir in der vorgelegten Arbeit zeigen wollen, kommt es auch unter diesen heute gebräuchlichen Lagerungsbedingungen zu Veränderungen der Konzentrationen vieler Plasmabestandteile. Es gibt, wie noch besprochen wird, sehr viele Arbeiten, die sich mit dem Stoffwechsel der Blutzellen befassen. Wir haben bei der Durchsicht der Literatur aber keine Arbeit gefunden, aus der man ersehen kann, in welchem Ausmaß Veränderungen der Metaboliten des Plasma im Ablauf der Lagerung zustande kommen. Es erschien uns deshalb wichtig, eine Reihe klinisch wichtiger Plasmabestandteile während der Alterung des konservierten Blutes zu verfolgen, damit man abschätzen kann, was man dem Patienten nun eigentlich transfundiert. Dies spielt wahrscheinlich eine besondere Rolle, wenn große Mengen konservierten Blutes übertragen werden, wie dies bei Einsatz der Herz-Lungen-Maschine oder bei großen Blutungen in der

Chirurgie oder Inneren Medizin (85) geschieht, oder wenn eine Austauschtransfusion etwa beim Icterus neonatorum oder beim Leberkoma durchgeführt werden soll. Gerade bei solchen Massivtransfusionen sind die Ergebnisse oft zweifelhaft, worauf auch ZENKER (85) hingewiesen hat.

Mit unserer Untersuchung wollen wir dazu beitragen, die Kenntnisse auf diesem Gebiet zu erweitern. Besonderes Augenmerk haben wir dabei auf die Plasma-Lipide gelegt. Über diese Metaboliten haben wir in der Literatur keine exakten Mitteilungen gefunden.

II. Komplikationen bei Bluttransfusionen

Bei der Alterung von konserviertem Blut kommt es zu vielen Wechselwirkungen von Zellen und Plasma, die zum besseren Verständnis kurz besprochen werden sollen.

Bereits aus den Anfängen des 17. Jahrhunderts sind uns die ersten Versuche der Blutübertragung auf Menschen bekannt (60), deren Erfolg freilich vom Zufall bestimmt wurde. Erst die Entdeckung der Blutgruppen durch Karl LANDSTEINER im Jahre 1901 ist ein besonderer Meilenstein für die Transfusion von Frischblut. Da aber nicht immer im entscheidenden Moment die richtigen Spender zur Verfügung standen, war die Entwicklung und Einführung von Konservierungsmethoden und verfeinerter Techniken der Blutgruppenbestimmung ein entscheidender Fortschritt. Erst so wurde die Übertragung von Blut bei den verschiedensten Erkrankungen zu einem vielfach angewandten Verfahren. Man hat errechnet, daß heute bereits jeder 10., in absehbarer Zeit jeder 8. Mensch einmal in seinem Leben eine Bluttransfusion erhält (21). Durch die getrennte Anwendung der Blutbestandteile erweitern sich die therapeutischen Möglichkeiten der Transfusionsbehandlung erheblich (21, 42). Deshalb wird die "Hämotherapie nach Maß" mit Blutfraktionen, wie Albumin, Gammaglobulin oder Gerinnungsfaktoren eine zunehmende Bedeutung gewinnen.

Die ersten flüssigen Stabilisatoren wurden von D' AGOTA, LEWISON und HUSTIN vor mehr als 50 Jahren eingeführt. Sie verwandten einen "einfachen Zitratstabilisator", nachdem sie erkannt hatten, daß das tertiäre Natriumsalz der Zitronensäure die erste Phase der Blutgerinnung durch Entionisierung des Kalziums verhindert. Inzwischen gab es 60-70 Zitratstabilisatoren, und, seit ROUS und TURNER (66) im Jahre 1916 dem Zitrat noch Glucose beifügten, verwendet man fast nur noch kombinierte Stabilisatoren (8, 41).

Der heute noch allgemein gebräuchliche ACD-Stabilisator ermöglicht eine Haltbarkeit der Blutkonserve während einer Lagerung bei $4^{o}C$ von etwa 21 Tagen. Dabei wird die Verwendbarkeit des Blutes bestimmt von der geforderten 70%igen

Überlebensrate der Spendererythrozyten im Empfängerorganismus noch nach 24 Stunden (29, 52, 74). Durch neue Methoden der Konservierung wurde die Verwendbarkeit des Blutes auf mehrere Wochen, ja sogar (2, 6, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 29, 32, 52, 53, 54, 58, 59, 61, 67, 69, 72, 74, 78, 83, 84) Monate erhöht. Das besondere Augenmerk der Konservierungstechnik ist dabei natürlich auf die Erhaltung der Erythrozyten gerichtet, weil die Zufuhr größerer Mengen hämolytischen Blutes zu unerwünschten Nebenwirkungen führen kann (85). Daneben wurden die übrigen Plasmametaboliten wenig beachtet. Im Erythrozyten ist die ATP-Konzentration besonders wichtig. Sie gilt heute als entscheidendes Kriterium für die Funktionserhaltung der Erythrozyten und der Enzyme und damit für die Güte der Konservierung des Blutes (8, 23, 27, 28, 29, 50, 53, 77, 83). Während der Konservierung des Blutes läuft der Stoffwechsel der überlebenden Blutzellen je nach der Temperatur verschieden schnell weiter. Es kommt dabei, wie wir in unserer Arbeit zeigen werden, zu Veränderungen sehr vieler Komponenten des Plasmas.

Bei Zufuhr kleinerer Mengen ACD-Blut in den Organismus des Empfängers werden die im Verlauf der Alterung entstandenen Metaboliten meist gut in den Stoffwechsel einbezogen. Wie schon oben ausgeführt, kommt es bei der Übertragung großer Mengen konservierten Bluts häufiger zu Komplikationen. ZENKER und Mitarbeiter (85) haben unter anderem folgende Komplikationen beschrieben: fortschreitende Hämolyse, Plasmaunverträglichkeit bei massiven Infusionen mit Konservenblut ("homologes Blutsyndrom"), außerdem die metabolische Acidose mit resultierendem Abfall von pH und Standardbicarbonat, Gerinnungsstörungen durch Schädigung der Thrombozyten, Fibrinolyse und Elektrolytverschiebungen (6).

Kritiker der Blutübertragung verweisen auf die beobachteten und möglichen Zwischenfälle und heben weitere Transfusionsschäden hervor: Übertragung von Hepatitis und seltener von Lues, die Hyperbilirubinämie, Zitratintoxikationen, Hämosiderose, pyrogene Reaktionen durch bakterielle Verunreinigungen, Embolien, Kreislaufüberladungen, Vasospasmus mit Gangrän und allergische Reaktionen, die von milden urticariellen Erscheinungen bis zum anaphylaktischen

Schock reichen können, obwohl eine sorgfältige Kreuzprobe durchgeführt wurde (41). Diese Reaktionen können zum Teil auf Thrombozyten- und Leukozyten-Antigene zurückgeführt werden.
Aber trotz aller Einwände ist die Bluttransfusion aus der modernen Therapie nicht mehr wegzudenken.

III. 1) Bisherige Untersuchungen über alterungsabhängige Veränderungen in ACD-Blut

Der menschliche Erythrozyt ist im Gefäßsystem erheblichen mechanischen Beanspruchungen ausgesetzt und hat nur eine begrenzte Lebensdauer, die, wie durch Markierung mit Isotopen gezeigt wurde, etwa 120 Tage beträgt (64). Bei einem Blutvolumen des Erwachsenen von ca. 5-6 Litern (34) werden also pro Tag die in ungefähr 50 ml Blut enthaltenen Erythrozyten abgebaut und auch wieder neu gebildet.

Die Lagerung von Blut in Glasflaschen oder Plastikbeuteln ist ein unphysiologischer Vorgang. In der Blutkonserve sammeln sich Stoffwechselprodukte an, die in vivo weiter metabolisiert würden. Es kommt zum Abbau von Ungleichgewichten innerhalb der Zelle, zwischen der Membran und der löslichen Phase, sowie zwischen Plasma und Blutzellen.

Normalerweise wird ACD-Blut bei $4^{\circ}C$ gelagert, um Hämolyse und Umbauvorgänge möglichst gering zu halten. Nur so kann die geforderte 70 %ige Überlebensrate der Erythrozyten noch nach 24 Stunden im Empfängerorganismus (29) garantiert werden. Bis dahin sind alle geschädigten Erythrozyten in der Milz und im retikulo-endothelialen System gemausert worden, deren physiologisches Lebensalter ohnehin bis zur Transfusion erreicht war, die durch den Säureschock (pH 5 des ACD-Stabilisators!) beim Einströmen in die Konserve zu stark geschädigt worden waren, deren osmotische Resistenz dem sich ständig ändernden Milieu nicht mehr gewachsen war und deren Enzymaktivität und ATP-Gehalt stark zurückgegangen war.

Die Zellen, die bis 24 Stunden nach der Transfusion nicht gemausert worden sind, besitzen auch eine relativ normale Überlebensrate. Es scheint, daß sich in dieser Zeit Glykolyse und ATP-Produktion wieder normalisiert haben, nachdem die Erythrozyten bei einem pH, der am 1. Tag bei 6,8-7,0 liegt und nach 3 Wochen noch ca. 6,4 beträgt (60, 77), und bei nur $4^{\circ}C$ gelagert worden waren.

LÖHR und WALLER (48, 49, 50) sowie RAPOPORT (56, 62, 63) haben Veränderungen an Enzymen der Blutzellen während der Alterung beobachtet. Sie fanden, daß einige Enzyme wie Phosphoglycerinaldehyddehydrogenase (PGADH), Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6-PDH) und Hexokinase besonders stark an Aktivität verlieren und glauben, daß dadurch eine Verminderung der Glykolyserate und des ATP-Gehaltes bewirkt wird. Der ATP-Gehalt wird deshalb als entscheidende Größe für das Überleben der Erythrozyten angesehen (6, 8, 23, 27, 28, 29, 53, 56, 77).

Neben den alterungsbedingten intrazellulären Enzymaktivitätsänderungen kommt es infolge einsetzender Hämolyse zu einem Austritt von Enzymen in das Plasma (37, 80).

Mit Abnahme der intakten Erythrozyten steigen Lactatdehydrogenase (LDH), Aldolase, Malatdehydrogenase (MDH) und die Transaminasen GOT und GPT. Hämatokrit- und LDH-Kurven zeigen einen genau spiegelbildlichen Verlauf.

Bei einer Vollbluttransfusion werden aber nicht nur Erythrozyten sondern auch Leukozyten und Thrombozyten, also das gesamte Gemisch aus intakten und mehr oder weniger geschädigten Blutzellen verabreicht. Die Zelltrümmer, insbesondere der Leukozyten und Thrombozyten, die schon nach wenigen Tagen entstehen, werden bald eliminiert.

LÖHR und WALLER (50) wiesen nach, daß bei konservierten und bei $+4^{\circ}C$ aufbewahrten Leukozyten nach einer Alterung der weißen Zellen von drei Tagen der Stoffwechsel nicht mehr ausreicht, die Lebensfähigkeit zu erhalten. Der ATP-Gehalt ist nach drei Tagen auf die Hälfte und nach 4 Tagen auf ein fünftel der Ausgangskonzentration abgefallen. BLUM (21) konnte zwar nach 35-tägiger Lagerung in ACD-Stabilisator noch 72 % der ursprünglichen Leukozytenzahl feststellen, aber das bedeutet keine Aussage über die Funktionsfähigkeit.

Untersuchungen an Thrombozyten (50) haben gezeigt, daß sie noch zu einem erheblichen Eigenstoffwechsel fähig sind. Sie besitzen Glykolyse, Pentosephos-

phatweg sowie den Zitronensäurezyklus und die Atmungskette. Die energiereichen Phosphate und die Stoffwechselgrößen der Thrombozyten betragen ein Vielfaches gegenüber den Erythrozyten. Im Verlaufe der Alterung der Blutplättchen kommt es innerhalb von 14 Tagen zu einer Abnahme aller Enzymaktivitäten um über die Hälfte. Der ATP-Gehalt sinkt innerhalb von 14 Tagen auf 4 % ab. In gleichen Untersuchungen an in ACD-Milieu bei $4^{o}C$ alternden Thrombozyten fand sich ein ähnlicher Verlauf im Abfall der Enzymaktivitäten. In den alternden Thrombozyten fand sich vom 7. Tage an eine deutliche Störung in der Retraktion; die Retraktionsfähigkeit ist an die ATP-Konzentration gebunden.
Wahrscheinlich ist aber Funktion und Überlebenszeit der Thrombozyten schon nach kurzer Lagerung stark eingeschränkt, weshalb bei thrombozytär bedingter Blutungsneigung heute frisches Thrombozytenkonzentrat übertragen wird. Alle diese Untersuchungen befassen sich mit dem Stoffwechsel der Blutzellen.

Die dabei im Plasma entstandenen Veränderungen haben weniger Interesse gefunden. Auch die im folgenden Kapitel beschriebenen Konservierungsverfahren zielen im wesentlichen darauf ab, die Erythrozyten über einen längeren Zeitraum am Leben zu erhalten. Aber auch die Konservierungsmittel selbst verändern schon das Plasma.

2. Der Stoffwechsel der roten Blutzellen und Möglichkeiten zur Verbesserung der Konservierungsmethoden.

Voraussetzung für die 21-tägige Lagerungszeit der Blutkonserven ist, daß die ACD-Konserven erschütterungsfrei bei $4^{o}C$ gelagert werden, ohne daß die Kühlung auch nur kurzfristig unterbrochen wird (29). Durch diese begrenzte Lagerungsfähigkeit werden in einer Blutbank, wie z.B. der Blutspendezentrale des BRK in Würzburg, die ihr Konservenblut von Gelegenheitsspendern erhält, etwa 30 % der Konserven zu alt zur Transfusion. Besonders wichtig wäre eine Verlängerung der Lagerungsfähigkeit des Blutes bei seltenen Blutgruppen oder bei zeitweiligem Spendermangel.

An Versuchen, die Konservierung der Erythrozyten weiter zu verbessern, hat es nicht gefehlt. DISCHE (9) hat 1938 zum ersten Mal auf einen Zusatz von Adenosin hingewiesen (8, 10), was von GABRIO, FINCH und PRANKERD 1954 wieder aufgegriffen wurde (32, 58). Mit diesem Zusatz fanden die Autoren eine deutliche Verlängerung der Konservierungsdauer.

So sollen die pH-empfindliche Hexokinase-Reaktion umgangen und energiereiche Phosphate in den oxydativen Pentosephosphatabbau eingeschleust werden. So kann selbst bei sinkendem pH ein ausreichender ATP-Spiegel erhalten bleiben. RUBINSTEIN, KASHKET und DENSTEDT (67) sowie die Japaner NAKAO, NAKAO, YOSHIKAWA u.a. (53, 54) gaben etwa gleichzeitig einen Stabilisatorzusatz mit der Purinbase Adenin und dem Purinnucleosid Inosin an und wiesen an folgenden Kriterien die Überlegenheit dieser Kombination nach, nämlich daß

1) der ATP-Gehalt der Erythrozyten
2) die Fähigkeit, den Kalium-Natrium-Gradienten aufrecht zu erhalten
3) die osmotische Resistenz und
4) die Überlebenszeit im Vergleich zu gewöhnlichen ACD-Erythrozyten

erheblich gebessert wird.

Ihre Beobachtungen ergaben, daß der ATP-Spiegel über 40 Tage auf der Ausgangshöhe gehalten wird und, daß die Kombination von Adenin und Inosin der alleinigen Gabe des Purinnucleosids Inosin weit überlegen ist.
Nach den Untersuchungen von NAKAO, YOSHIKAWA (84) sowie von FISCHER (24) steht fest, daß Purinnucleoside bei durch sauren pH blockierter Hexokinase-Reaktion den ATP-Gehalt der Erythrozyten hochhalten. Dies ist möglich, weil der Erythrozyt das Enzym Purinnucleosidphosphorylase besitzt, welches in Gegenwart von anorganischem Phosphat die hinzugefügten Nucleoside in Purin und Ribose-1-Phosphat spaltet.

$$\text{Nucleosid} + H_3PO_4 \xrightleftharpoons{\text{Phosphorylase}} \text{Purin} + \text{Ribose-1-P}$$

Dabei wird Ribose-1-Phosphat, wie durch nachfolgendes Schema veranschaulicht, auf verschiedenen Wegen unter Umgehung der Hexokinase-Reaktion in die Glykolyse eingeschleust (44). Dabei erweist es sich als Vorteil, daß die Phosphorylase in den bei längerer Blutlagerung vorkommenden pH-Bereichen sehr stabil ist.

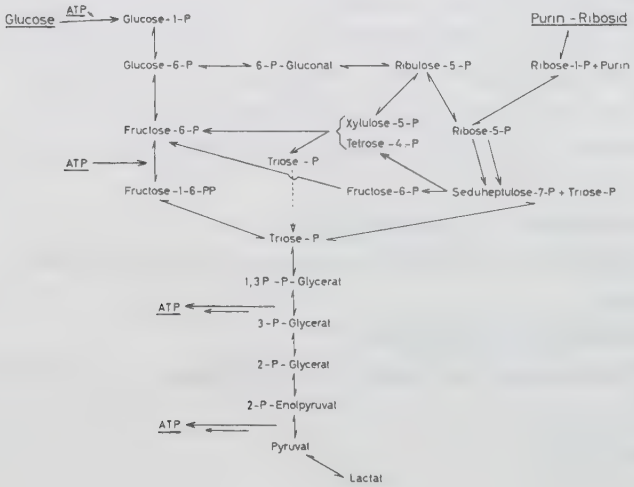


Abb. 1: Ribosephosphat und seine Beziehung zur Glykolysekette (aus 23)

In dem von NAKAO, NAKAO, YOSHIKAWA et al. angegebenen, oben zitierten Stabilisatorzusatz aus Adenin und Inosin spielt das Inosin nach der phosphorolytischen Spaltung die Rolle des Pentose- oder Pentose-P-Donators. Adenin kann anschließend mit Ribose-P zu ATP synthetisiert werden. YOSHIKAWA und NAKAO (84) klären den Reaktionsmechanismus und geben als Summenformel an:

Inosin + Adenin + anorg.-P. + 4~P ⟶
⟶ ATP + Hypoxanthin + Pyrophosphat

~P = energiereiches Phosphat

Hypoxanthin stellt ein vom Inosin stammendes Abfallprodukt dar, das aus der Zelle herausgeschafft wird, um später in Harnsäure umgewandelt ausgeschieden zu werden.

Mitarbeiter des Blutspendedienst der Frankfurter Universitätskliniken unter SPIELMANN haben die Forschungen mit Nucleosidzusätzen für ACD-Blutkonserven weitergeführt und ihre Ergebnisse in den "Untersuchungen zur verbesserten Zellkonservierung" veröffentlicht. Dabei haben WOSEGIEN, DOSE und FISCHER (83) die Auswirkungen von Adenin und Inosin weiteruntersucht. Sie fanden, daß selbst 100 Tage lang in ACD bei $4^{o}C$ gelagerte Erythrozyten noch in der Lage sind, die hinzugefügten Purinnucleoside phosphorolytisch zu spalten und Pentosephosphat zu metabolisieren. Übrigens erwies sich die Kombination Adenin + Inosin als nicht toxisch und deshalb besonders glücklich. Adenosin dagegen wird z. T. desaminiert und wirkt in größerer Menge kreislauftoxisch.

FERBER und FISCHER (22) gingen 1963 noch einen Schritt weiter und erzielten eine optimale Lagerfähigkeit für ACD-Blut durch Zusätze von Inosin, Adenin und Guanosin (IAG) im Verhältnis von 20 : 0,5 : 0,5 mMol. Sie prüften die mechanische Resistenz der Erythrozyten: 50 Tage mit Zusatz von IAG gelagerte Erythrozyten hatten die gleiche Festigkeit wie 20 Tage in ACD gelagerte. Als wirksamste Komponente bestätigte sich Inosin.

Aber auch mit Steroiden, wie z.B. mit Prednisolon, wurde eine Steigerung der mechanischen Resistenz erreicht (22). Zur Erklärung wird eine verbesserte "Membranabdichtung" (23) angenommen. Aber ein Steroid-Zusatz liefert keinen ATP-Anstieg.

FRITZSCHE, SIEDENTOPF und SPIELMANN haben 3000 Konserven mit Inosin-Adenin-Guanosin-Zusatz (IAG) hergestellt, transfundiert und ihre Erfahrungen veröffentlicht (29). Sogar plasmaarme IAG-Konserven können noch nach 42-tägiger Lagerung transfundiert werden. Die Überlebensrate Cr^{51}-markierter Erythrozyten ist nach 42 Tagen 78-80 % und damit besser als die 21 Tage alter ACD-Konserven. Nach zwei bis drei Wochen Lagerung gelten IAG-Konserven noch als Frischblut mit einer durchschnittlichen Überlebensrate von 90%. Das entspricht vier Tage alten ACD-Konserven. Der ATP-Gehalt beträgt nach 42 Tagen noch 16 mg%; das entspricht frischen, nur wenige Stunden alten ACD-Konserven. Auch 70 Tage alte IAG-Konserven wurden mit guter Überlebensrate der markierten Erythrozyten transfundiert. Bei über 3000 Transfusionen von 35-42 Tagen alten IAG-Konserven traten nur 0,3 - 0,4 % leichte bis mittelschwere Transfusionsreaktionen auf (vorwiegend Temperaturerhöhungen bis maximal 39°C). Kalium- und Harnsäureanstieg im Plasma führten niemals zu Zwischenfällen. Nach Zusammenschau aller Erfahrungen halten die Autoren sowohl Vollblut- als auch plasmaarme IAG-Konserven für 45 Tage haltbar (25). Demnach stellt die IAG-Konservierung ein wirklich verbessertes Verfahren dar, und die Zugabe von Nucleosiden wird bei gelagerten Erythrozyten bald unumgänglich sein.

Die größte Zahl der Konserven wird aber noch mit dem bisher üblichen ACD-Stabilisator hergestellt, nicht zuletzt aus finanziellen Gründen.

Bei der Konservierung in flüssigem Zustand scheint auch mit verbesserten Stabilisatoren eine Lagerungszeit von sechs Wochen die obere Grenze zu sein. Für noch längere Zeiten ist die Tiefkühlkonservierung notwendig, bei der durch schnelles Einfrieren (binnen 90 Sekunden auf Temperaturen bis zu - 196°C) eine Bildung von Eiskristallen in den Erythrozyten - und damit eine Schädigung - ver-

mieden werden soll.
Erythrozyten werden vom Plasma getrennt und Schutzstoffe, die eine zu hohe Elektrolytkonzentration vermeiden sollen, wie Glycerin, Dextrane oder Polyvinylpyrrolidin zur Gefrierpunkterniedrigung beigegeben (2, 59, 72, 74).
Dabei sind die Verluste in vitro nach dem Auftauen und Waschen etwa 5-20 %. Die 24-Stunden-Überlebensrate lag nach SPIELMANN aber nur um 70 % oder gar darunter. Deshalb soll aufgetautes Blut binnen 24 Stunden transfundiert werden. Die Schädigung durch Tiefkühlkonservierung betrifft neben den Erythrozyten vor allem den Verlust der Retraktionsfähigkeit der Thrombozyten. KRIJNEN und Mitarbeiter (59) empfehlen eine Methode mit Glycerol und Sorbitol. Die Verluste sollen in vitro 2-6% und in vivo nach 24 Stunden 5-6 % betragen. Die Überlebensdauer der Erythrozyten beträgt bei - 20°C schon 6 Monate und bei - 79°C mindestens 2 Jahre (72).
Die Durchsicht der Literatur zeigt also, daß es viele Arbeiten über einzelne Stoffwechselmetaboliten und die wichtigsten Konservierungsmethoden gibt.
Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zur weiteren Untersuchung der altersbedingten Veränderungen wichtiger Stoffwechsel-Parameter bringen, unter denen die Plasmalipide besonders berücksichtigt wurden. Ein besonderes Augenmerk haben wir dabei auf die Veränderungen der Plasmabestandteile gerichtet. Plasma und Blutzellen beeinflussen sich gegenseitig. Andererseits wird das Plasma mit transfundiert, und ein stark verändertes Plasma kann unter gewissen Umständen, vorallem bei Massivtransfusionen, pathogenetische Bedeutung gewinnen.

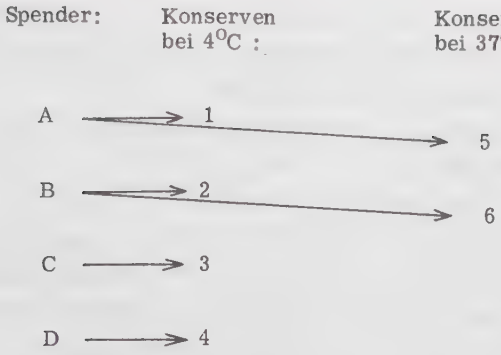
IV. Material und Methodik

Material:

Unsere Untersuchungen wurden an ACD-stabilisierten Blutkonserven durchgeführt, die uns vom Blutspendedienst des BRK in Würzburg bereitgestellt wurden.
In jeder Bioflasche befanden sich ursprünglich 50 ml ACD-Stabilisator. Sie waren vor Einfüllung des Blutes evakuiert, sterilisiert und auf Pyrogenfreiheit geprüft worden. Der Stabilisator der Firma BIOTEST nach der im amerikanischen Arzneibuch (USP XVII) enthaltenen Formel B hatte folgende Zusammensetzung:

13,2 g Natr. citr. neutr. 2 H_2O
4,4 g Acid. citr.
14,7 g Saccharum amylac. H_2O
Aqua dest. ad 1000 ml

Die Füllung der Blutkonserven erfolgte nach den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Bluttransfusion (4).
Insgesamt wurden 12 Konserven für die Untersuchungen herangezogen. Bei 6 Stück wurden in Vorversuchen die zu erwartenden Dimensionen überprüft und die Methoden eingeübt. 2 Blutkonserven zeigten bakterielle Verunreinigungen und mußten ausgeschieden werden. 6 Konserven mit einwandfreien Beobachtungsergebnissen gingen in die endgültige Auswertung ein. Insgesamt wurden an diesen 6 Konserven mehr als 2500 Messungen vorgenommen. Der Rest der Konserven wurde zur bakteriologischen Untersuchung eingeschickt und war steril.
Es wurde ausschließlich das Blut gesunder männlicher Gelegenheitsspender verwendet, die bereits mehrfach dem BRK ihr Blut zur Verfügung gestellt hatten. Die 6 Konserven, die in die endgültige Auswertung eingingen, wurden am selben Tag binnen 2 Stunden (nach dem Mittagessen!) von insgesamt 3 Spendern abgenommen. Dabei wurden von den ersten beiden Spendern nacheinander jeweils 2 Konserven mit je 200 ml Blut gefüllt. Die letzten beiden Konserven stammten von verschiedenen Spendern.



Damit waren alle Blutkonserven gleich alt. Die beiden Konservenpaare von den Spendern A und B wurden bei verschiedenen Bedingungen aufbewahrt, so daß die Konserven 1 bis 4 im Kühlschrank bei + 4 bis 6°C und die Flaschen 5 und 6 bei 37°C im Wasserbad gelagert wurden. Schon nach einem Tag war klar zu erkennen, daß das Blut der Spender A und B lipämisch war; die erste Meßreihe brachte über der Norm liegende Werte einzelner Fraktionen. Offenbar hatten die Spender vor ihrem Gang zur Blutspendezentrale noch ein ausgiebiges und fettreiches Essen zu sich genommen.

An jedem Arbeitstag wurden unter sterilen Kautelen ca. 12 ml ACD-Blut entnommen, die Hämatokritröhrchen gefüllt und das Plasma durch Zentrifugieren (10 Minuten) gewonnen.

Es wurden ermittelt:

1. Hämatokrit

als Maß für die fortschreitende Hämolyse - und außerdem folgende Metaboliten des Plasma

2. Hämoglobingehalt
3. Gesamt-Lipide
4. unveresterte Fettsäuren
5. veresterte Fettsäuren
6. Gesamt-Cholesterin
7. freies Glycerin
8. Gesamt-Glycerin
9. Ester-Glycerin
10. Neutralfett

Für die Untersuchungen 3 bis 5 wurde mit den Testkombinationen der Firma Haury, für 6 bis 8 mit Reagenzien der Firma Boehringer gearbeitet. Alle Bestimmungen wurden bei 25°C in einem temperierten Küvettenhalter im Eppendorf-Photometer der Firma Netheler und Hinz gemessen.

Bei den kolorimetrischen Methoden 2, 3, 4, 5, 6 wurde direkt abgelesen, bei enzymatischen Bestimmungen (7, 8, 9, 10) wurde der Reaktionsverlauf mit einem Direktschreiber registriert.

Schließlich wurden mit dem Technicon-Autoanalyzer SMA 12 folgende Bestimmungen durchgeführt:

11. Gesamt-Cholesterin	12. Kalzium
13. anorganisches Phosphat	14. Gesamt-Bilirubin
15. Albumin	16. Gesamt-Protein
17. Harnsäure	18. Harnstoff-Stickstoff
19. Glucose	20. LDH
21. Alkalische Phosphatase	22. SGOT

Methodik:

1. Mit der Hawksley-Mikrohämatokritzentrifuge wurde der Hämatokrit bestimmt.
2. Der Hämoglobin-Gehalt im Plasma wird über die Cyanhämiglobin-Methode bestimmt. Das in der Probe enthaltene Hämoglobin wird durch Kaliumferricyanid zu Methämoglobin umgewandelt, das dann mit Kaliumcyanid zu Cyanhämiglobin reagiert, dessen Extinktion bei 546 nm gegen destilliertes Wasser als Blindprobe gemessen wird. Die Färbung ist nach 20 Minuten sehr stabil.
3. Gesamt-Lipide nach CHABROL und CHARONNAT (86), modifiziert von HOEFLMAYR und FRIED (39).

In der Sulfophosphovanillin-Reaktion (SVP-Reaktion) werden Neutralfette, Cholesterin und Phosphatide sowie freie Fettsäuren und Sphingolipoide erfaßt. Sie alle enthalten Doppelbindungen. Nach Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure auf die Plasma-Lipide ergeben die Oxydationsprodukte mit Phosphorsäure und Vanillinaldehyd eine rosa Farbe. Andere Plasmainhaltstoffe geben diese Reaktion nicht. Durch ihre weitgehende Unspezifität ist die SVP-Reaktion zum allgemeinen Lipoidnachweis geeignet. Ein wäßriger Standard ermöglicht die rasche photometrische Messung der Gesamt-Lipide bei 546 nm.

Die Übereinstimmung der nach der SVP-Methode gewonnenen Werte mit den nach der von EGGSTEIN (13) angegebenen Formel (mg% Gesamt-Lipide = mg% veresterte Fettsäuren + Gesamt-Cholesterin + Lipidphosphor x 6,3) errechneten ist mit 3,1 % Abweichung gut (39).
Normalwerte bis 1000 mg% im Serum ≙ bis 800 mg% in der ACD-Konserve (entsprechend der Verdünnung durch den Stabilisator, s. S. 14)

4. Unveresterte Fettsäuren nach DUNCOMBE (11)
Die freien Fettsäuren werden durch Kupfernitratlösung in Kupfersalze überführt. Sie sind in Chloroform löslich. Mit Diäthyldithiocarbamat wird in der Chloroformlösung ein Farbkomplex gebildet und bei 436 nm im Eppendorf-Photometer gemessen. Durch die Bestimmung des Kupfers im Chloroform-Extrakt kann daher auf die im Serum vorhandenen Äquivalente unveresterter Fettsäuren geschlossen werden (5, 70).
Normalwerte bis 0,3 mVal/Liter im Serum ≙ bis 0,24 mVal/Liter in der Konserve.

5. Veresterte Fettsäuren modifiziert nach FRIED und HOEFLMAYR (26).
Veresterte Fettsäuren lassen sich mit Isopropanol aus dem Serum extrahieren. Mit Hydroxylamin bilden sich in quantitativer Reaktion in alkalischer Lösung Hydroxamsäuren, die mit einer Eisen-III-Chloridlösung einen Eisen-Hydroxamat-Komplex rotbrauner Farbe geben. Die Intensität der Farbe ist der Zahl der Esterbindungen proportional (15) und wurde bei 546 nm im Eppendorf-Photometer gemessen.
Normalwerte bei Männern bis 430 mg% im Serum ≙ bis 345 mg% in der Konserve.

6. Gesamt-Cholesterin nach LIEBERMANN und BURCHARD modifiziert nach PEARSON et al. (57) und WATSON (79).
Das Eiweiß des Plasma wird durch Zusatz von 2-5-Dimethyl-Benzolsulfonsäure in Lösung gehalten und stört die Liebermann-Burchard-Reaktion nicht. Bei der Behandlung von Cholesterin mit Essigsäure-Anhydrid und konzentrierter Schwefelsäure entstehen im wasserfreien Milieu und bei 25°C polymere ungesättigte Kohlenwasserstoffe (Halochrome) mit intensiv blaugrüner Farbe,

die bei 578 nm photometriert werden (12, 40, 65, 71). Die Liebermann-Burchard-Reaktion ist nicht allein spezifisch für Cholesterin, sondern auch für Gallensäure, Carotinoide und Bilirubin.
Es gibt eine Korrekturformel, bei der pro mg% Bilirubin über 1,5 mg% 10 mg% Cholesterin abgezogen werden (12, 31, 40, 65, 71). Der Bilirubin-Gehalt wurde in Tabelle und Diagramm berücksichtigt.
Normalwerte bei Männern 150-330 mg% ≙ 120-265 mg% in der Konserve.
7. Freies Glycerin nach EGGSTEIN und KREUTZ (1, 14, 16, 17, 43, 45, 75). Glycerin wird im enzymatischen optischen Test bestimmt, bei dem die Extinktionsänderung des Coenzyms NADH, das oxydiert wird, photometrisch bei 366 nm gemessen wird. Bei der Mengenbestimmung des Glycerins mißt man den Substrat-Umsatz unter Enzym-Überschuß bis zum Ende des Reaktionsablaufs. Dabei sind die Absolutwerte unmaßgeblich; es werden Extinktionsdifferenzen ΔE gemessen. Bei der Endwertbestimmung kommt es oft nicht zum völligen Stillstand der Reaktion, weil andere Prozesse ablaufen, die NADH verbrauchen. Die Extinktion verändert sich langsam weiter ("schleicht"). Dieser mit der Zeit sich linear ändernde Extinktionswert überlagert die gesamte Reaktion, so daß graphisch auf t_o (Zeit des Starts der Reaktion) zu extrapolieren ist. An den linearen Teil der Kurve wird eine Tangente gelegt und nach rückwärts bis zur Zeit t_o verlängert. Der Schnittpunkt mit der Ordinaten gibt den richtigen Endwert und damit die Extinktionsdifferenz ΔE an (1).

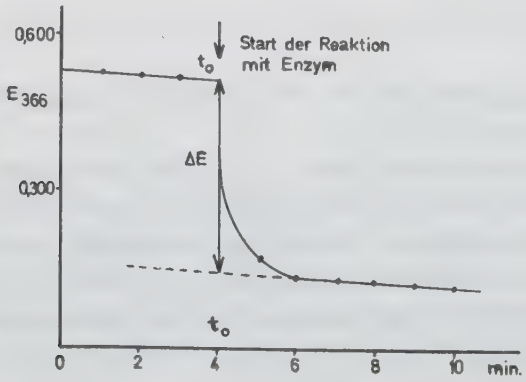


Abb. 2: Schematische Darstellung einer Endwert-Bestimmung

Prinzip (75): Glycerin wird im dreistufigen enzymatischen Test direkt aus dem Plasma mit dem Enzym Glycerokinase (GK) bestimmt. Glycerokinase katalysiert die Reaktion

(1) Glycerin + ATP $\overset{GK}{\rightleftharpoons}$ Glycerin-1-phosphat + ADP

Das entstandene ADP wird mit einer enzymatischen Reaktion, die durch das Enzym Pyruvatkinase (PK) katalysiert wird, unter Bildung von Pyruvat wieder in ATP überführt.

(2) ADP + Phosphoenolpyruvat $\overset{PK}{\rightleftharpoons}$ ATP + Pyruvat

In der nächsten Reaktion wird das Pyruvat durch NADH mittels Lactatdehydrogenase (LDH) zu Lactat hydriert, wobei die Extinktionsänderung während der Oxydation des NADH zu NAD^+ bei 366 nm im Photometer gemessen wird.

(3) Pyruvat + NADH + H^+ $\overset{LDH}{\rightleftharpoons}$ Lactat + NAD^+

Die während der Reaktion verbrauchte NADH-Menge ist äquimolar der vorhandenen Glycerin-Menge.
Normalwerte 0,5-1,7 mg% freies Glycerin im Serum $\hat{=}$ 0,4 - 1,36 mg% in der Konserve

8. Gesamt-Glycerin nach EGGSTEIN und KREUTZ (1, 14, 16, 17, 43, 45, 75)
Das gesamte Glycerin des Plasma wird durch Verseifung mit äthanolischer Kalilauge freigesetzt. Dann wird mit Perchlorsäure enteiweißt, die als Enzyminhibitor nach erfolgter Enteiweißung wieder entfernt werden muß.
Perchlorat-Ionen werden in der Kälte bei +4°C als Kaliumsalz ausgefällt und zentrifugiert. 0,5 ml des klaren Überstandes werden - auf 25°C temperiert - in den unter 7. beschriebenen dreistufigen enzymatischen Test eingesetzt.
Der Test wird angesetzt mit Ausnahme von Glycerokinase. Sobald eine konstante Extinktion erreicht ist, wird der Umsatz des Glycerins durch Zugabe von Glycerokinase gestartet.
Normalwerte 8-20 mg% im Serum $\hat{=}$ 6,4-16 mg% in der Konserve

9. Esterglycerin nach EGGSTEIN und KREUTZ (1, 14, 16, 17, 43, 45, 75)
Das Esterglycerin ergibt sich als Differenz. Es wird errechnet nach der For-

mel mg% Gesamtglycerin - mg% freies Glycerin = mg% Esterglycerin
Normalwerte 7,7-17,9 mg% im Serum ≙ 6,2-14,4 mg% in der Konserve
10. Neutralfett nach EGGSTEIN und KREUTZ (1, 14, 16, 17, 43, 45, 75)
Neutralfette sind Glycerinester höherer unverzweigter Fettsäuren mit einer Kettenlänge von 12-24 Kohlenstoffatomen. Neben gesättigten kommen auch ungesättigte Fettsäuren vor, die als Mono-, Di- oder Triglyceride gebunden sind. Sie errechnen sich nach:
mg% Esterglycerin x 9,62 = mg% Neutralfett
Das Glyceridglycerin wird wie unter 9. angegeben bestimmt. Der Faktor 9,62 wurde aus der Bestimmung der Fettsäuren nach Esterglycerin-Spaltung gefunden (14). Normalwerte 74-172 mg% ≙ 59-138 mg% in der Konserve.

Ergänzend wurden mit dem Technicon-Autoanalyzer SMA 12 weitere Stoffwechselmetaboliten untersucht. 12 Messungen wurden mit 3 ml Plasma durchgeführt. Alle erfolgten kolorimetrisch und wurden auf ein von der Herstellerfirma geliefertes Standardserum bezogen. Zwischengeschaltete Spülungen sorgten für exakte Ergebnisse.
Wir bestimmten damit (18, 47, 51, 68):
11. Gesamtcholesterin.
Dieser Bestimmung liegt die Liebermann-Burchard-Reaktion zu Grunde in der von Huang et al. beschriebenen Modifikation ohne Extraktion. Reagenzien sind Essigsäureanhydrid, konzentrierte Essigsäure und konzentrierte Schwefelsäure ohne Zusatz von Natriumsulfat. Das Gemisch ist sehr hygroskopisch und muß immer frisch angesetzt werden. Bei 630 nm wird der grünblaue Komplex kolorimetriert. Bilirubinwerte über 1,5 mg% stören (31). Es gilt die unter 6. beschriebene Korrekturformel.
12. Kalzium wird nach Enteiweißung der Probe über den Dialysator komplexometrisch mit Kresolphthalein-Komplexon bei 580 nm kolorimetriert.
13. Anorganisches Phosphat wird abdialysiert und nach Reduktion mit Zinn-II-Chlorid als Phosphormolybdänblau bei 660 nm kolorimetriert.
14. Bilirubin: Diese Bestimmung entspricht der alten Methode nach Jendrassik. Coffein-Natriumbenzoat-Lösung wird mit diazotierter Sulfanilsäure und Biliru-

bin zu einem roten Azofarbstoff gekuppelt. Durch Alkalisierung mit Fehling-II-Lösung schlägt der Farbton in blaugrün um und wird bei 600 nm kolorimetriert.

15. Albumin geht mit dem Farbstoff 2-(4-Hydroxyazobenzol)-benzoesäure selektiv einen orangen Farbkomplex ein und wird bei 505 nm gemessen.

16. Der Gesamtprotein-Bestimmung liegt die Biuretmethode nach Weichselbaum zu Grunde. Der blaue Farbkomplex wird bei 550 nm kolorimetriert.

17. Harnsäure wird gegen NaCl-Lösung dialysiert und reduziert im alkalischen Milieu zweiwertiges Kupfer. Gebildete Kupfer-I-Ionen reagieren mit Bathocuproin und werden bei 486 nm kolorimetriert. Eine Reihe reduzierender Substanzen können in höherer Konzentration einen höheren Harnsäurespiegel vortäuschen.

18. Harnstoff wird dialysiert und in saurem Milieu mit Diacetylmonoxim in Gegenwart von $FeCl_3$ und Thiosemicarbacid nach Erhitzen auf 95°C als rötlicher Farbkomplex bei 520 nm kolorimetriert.

19. Glucose: Dieser Bestimmung liegt eine neuere recht zuverlässige Reduktionsprobe zu Grunde. Kupfer-II-Ionen werden durch Glucose zu Kupfer-I-Ionen nach Dialyse gegen Kochsalz reduziert. Bei 95°C wird mit Neocuproin ein Chelatkomplex bei 460 nm kolorimetriert. Durch Zugabe von Natriumcarbonat sollen Störungen durch andere reduzierende Substanzen, wie Ascorbinsäure oder SH-Gruppen weitgehend eliminiert werden.

20. Durch das Enzym Lactatdehydrogenase (LDH) wird Lactat in Pyruvat umgewandelt. Dabei entsteht NADH. Dieses reduziert mit Diaphorase versetztes 3-Nitrophenyl-1-2-Jodophenyl-5-Phenyltetrazoliumchlorid zu rotem Formazan, das bei 505 nm kolorimetriert wird. Die Aktivität wird in Wacker-Einheiten angegeben.

21. Die alkalische Phosphatase wird durch eine modifizierte King-Armstrong-Methode bestimmt. Aus Phenylphosphat setzt es Phenol frei. Mit 4-Aminoantipyrin und Ferricyanid entsteht ein roter Farbstoff, der bei 505 nm gemessen wird. Die Enzymaktivität wird in King-Armstrong-Einheiten angegeben (30).

22. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase wandelt Aspartat in Oxalacetat um. Dieses wird gegen einen Zitratpuffer dialysiert und geht an Azoene Fast Red gekuppelt einen orangebraunen Farbkomplex ein, der bei 460 nm photometriert wird. Aktivitätsangabe in Karmen-Einheiten.
SCHILY, EGGSTEIN et al. (18, 43, 68) haben die mit dem Auto-Analyzer und die manuell-konventionell gewonnenen Werte miteinander verglichen. Dabei fanden sie für Cholesterin, Kalzium, anorganisches Phosphat, Bilirubin, Albumin, Gesamt-Eiweiß und Harnstoff bei serieller Messung einen Variationskoeffizienten von weniger als 2 %. Für Kreatinin geben sie 2,7 %, für Harnsäure 3,9 % an. Die Messungen der Enzymaktivitäten von LDH, alkalischer Phosphatase und SGOT sind nicht so gut wie im UV-Test. Sie sind in der Genauigkeit den manuell ermittelten Werten unterlegen.

V. Ergebnisse

In allen graphischen Darstellungen haben wir aus Gründen der Übersichtlichkeit jeweils die Meßergebnisse aus 2 Konserven zu einer Kurve zusammengefaßt. So ergeben die Mittelwerte der Ergebnisse aus den Untersuchungen an den Konserven 1,2 die Kurve A
Konserven 3,4 die Kurve B } Lagerung bei 4°C
Konserven 5,6 die Kurve C: Lagerung bei 37°C

Am Beispiel der Gesamt-Lipide haben wir das Vorgehen veranschaulicht. Abbildung 5a zeigt die Vorgänge in jeder der 6 Konserven, in Abbildung 5b sind die Mittelwerte A, B, C wiedergegeben, wie es bei allen anderen Untersuchungen auch gehandhabt wurde.
Als Maß für die fortschreitende Hämolyse haben wir den Hämokrit und den Hämoglobin-Gehalt im Plasma untersucht.

Hämatokrit: Abb. 3, Tab. 1

In Abb. 3 ist der Hämatokrit-Verlauf während der gesamten Untersuchungsdauer von 44 Tagen dargestellt. In den kalten Konserven (4°C) beträgt der Hämatokrit am 1. Untersuchungstag (ca. 18 Stunden nach der Blutabnahme) im Mittel 42,8 bzw. 41, um nach 44 Tagen auf 39 bzw. 36,7 abzufallen. Das ist eine Abnahme des Zellvolumens um 9 bzw. 10,5 %. Wesentlich rascher geht der Abfall in den warmen Konserven (37°C) voran. Im Mittel sind bereits nach 12 Tagen alle Erythrozyten zerstört. Unter dem Mikroskop sind nur noch Zelltrümmer zu erkennen. Während in den kalten Konserven die Abnahme des Hämatokrit relativ gleichmäßig erfolgt, zeigt die Kurve C bis zum 8. Tag einen Kurvenverlauf mit 2 Maxima. PRANKERD (58) hat zum ersten Mal einen Zusammenhang zwischen Stoffwechsel und Struktur der Erythrozyten an Konserven postuliert. Das wurde später von NAKAO, YOSHIKAWA et al. (55) bestätigt. Morphologisch ändert sich das Aussehen der Erythrozyten mit sinkender ATP-Konzentration in Richtung Stechapfel- oder Quellungsform. Mit diesem Strukturwandel ist der Verlauf der Kurven - besonders der warmen Konserven - zu erklären. Das erhöhte Zellvolumen geht einher mit verminderter osmotischer Resistenz. Das führt zu einer schnellen Zerstörung der Erythrozyten.

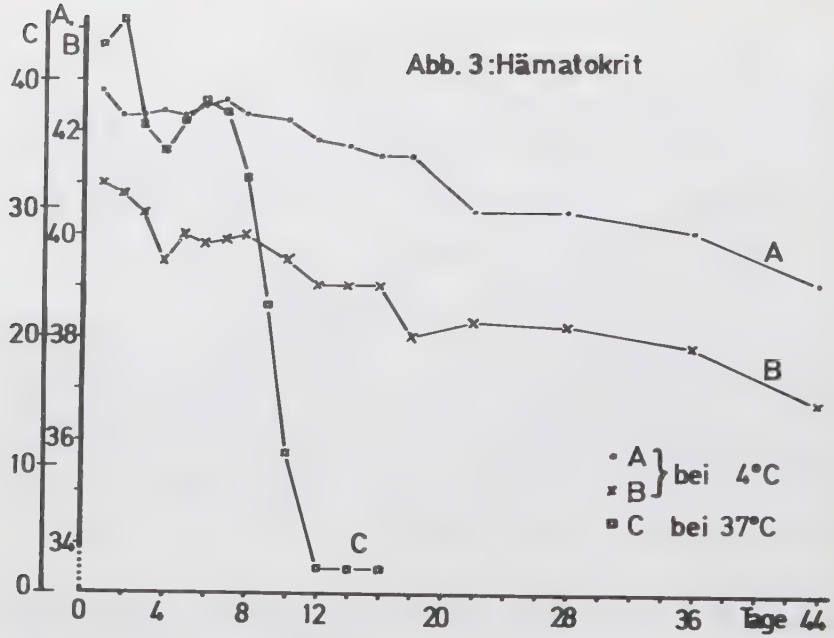


Abb. 3: Hämatokrit

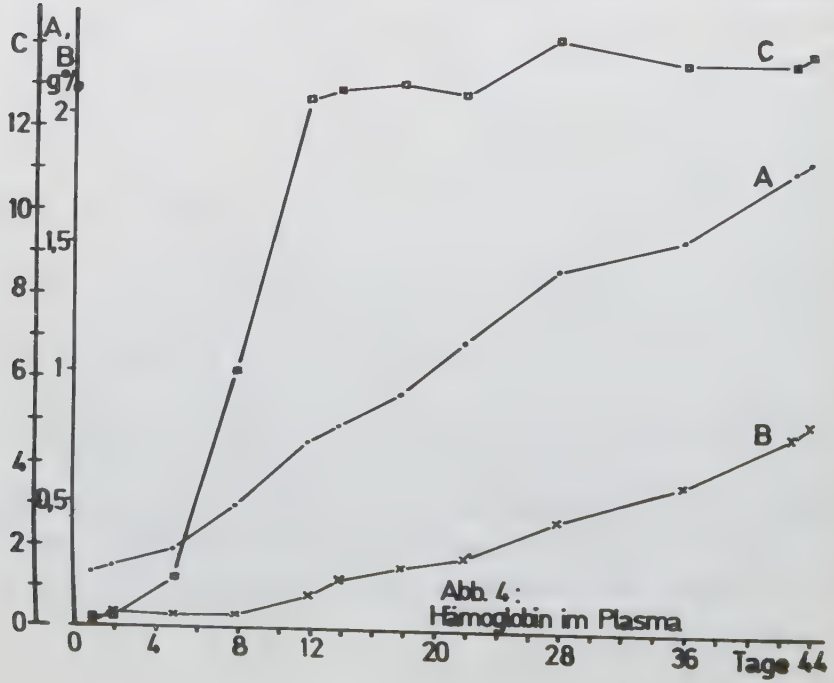


Abb. 4:
Hämoglobin im Plasma

Hämoglobin: Abb. 4, Tab. 2

Der Hämoglobin-Gehalt im überstehenden Plasma nimmt entsprechend der Hämolyse zu. Hämatokrit- und Hämoglobinkurven zeigen genau spiegelbildlichen Verlauf. Nach 18 Tagen, also noch innerhalb der möglichen Transfusionszeit, beträgt bei $4^{o}C$ der Hämoglobingehalt im Plasma bereits 918 bzw. 252 mg%, um nach 44 Tagen stetig bis auf 1825 bzw. 817 mg% angestiegen zu sein. Bei $37^{o}C$ hat die Hämatokrit-Kurve schon nach 12 Tagen ihren Tiefpunkt und entsprechend der Hämoglobin-Gehalt fast seinen Höchststand erreicht, der sich in den folgenden Tagen auf Werte um 13,5g/100 ml einpendelt. Damit sind fast 85% des Hämoglobins ins Plasma übergetreten.

Gesamt-Lipide: Abb. 5a, b, Tab. 3

In Abb. 5a ist die Entwicklung der Gesamt-Lipide in jeder einzelnen Konserve aufgetragen, in 5b sind es die erwähnten Mittelwerte. In diesen Schaubildern ist summarisch die Entwicklung aller Fettkörper des Plasma erfaßt. In den folgenden Darstellungen werden einzelne besonders interessante Fettfraktionen gesondert herausgestellt.

In den kalten Konserven steigen die Gesamtlipide in den ersten 9 Tagen besonders stark an, um mehr als in den folgenden 35 Tagen zusammen. Ein Maximum ist während der 44 Tage nicht zu erkennen. Im Wasserbad bei $37^{o}C$ dagegen steigen die Gesamtlipide vom gleichen Ausgangswert (ca. 1320 mg%) wie das Konservenpaar A schnell an bis zum Höchstwert von 1660 mg% nach 7 Tagen. Dieser ist schon nach 3 Tagen mit 1629 mg% fast erreicht. Dem steilen Anstieg folgt ein fast ebenso rapider Abfall und ein langsames Ausschleichen, so daß nach 28 Tagen mit 1327 mg% etwa der Ausgangswert erreicht ist, der in der Folgezeit noch unterschritten wird.

In den kalten Konserven wäre der gleiche Vorgang, nur nach wesentlich längerer Zeit, zu erwarten, so daß die Lagerung bei $37^{o}C$ eine Raffung aller Stoffwechselmechanismen darstellt.

Aus den Meßergebnissen kann man folgern, daß im Zuge der Hämolyse Lipide aus den Erythrozyten in das Plasma freigesetzt werden. Neben dem Erliegen der ATP-liefernden Reaktionen liegt auch in der Änderung der Lipidzusammensetzung der Zellmembran die Erklärung für die Erniedrigung der osmotischen

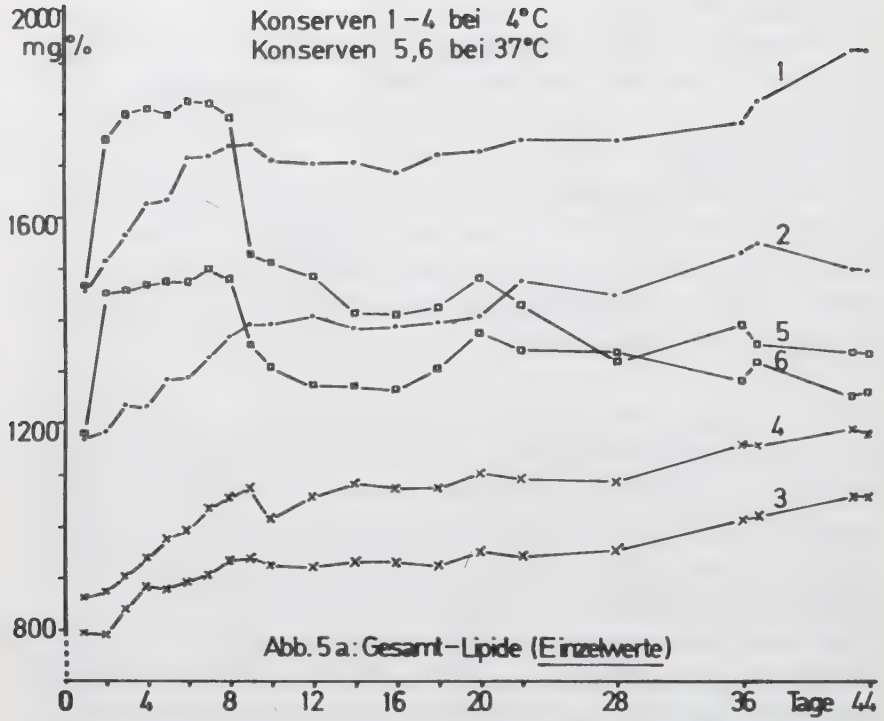


Abb. 5a: Gesamt-Lipide (Einzelwerte)

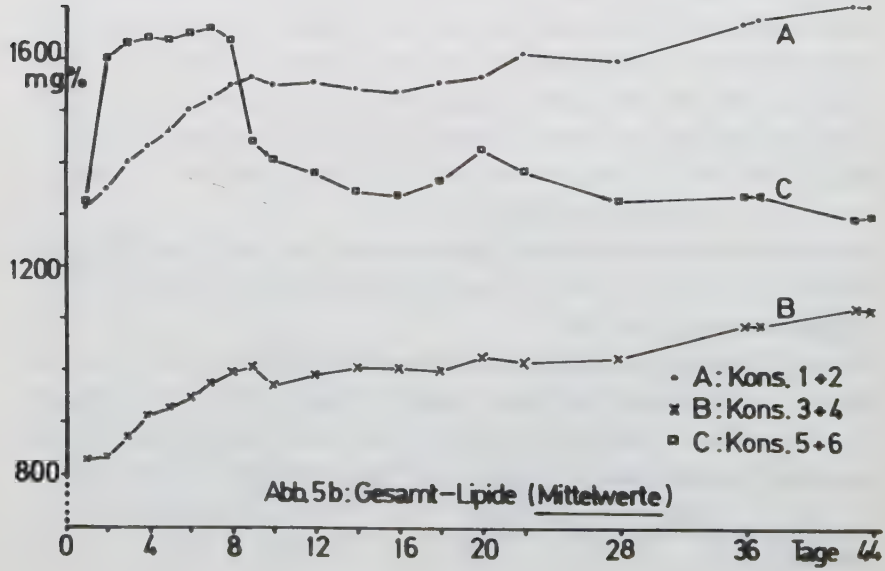


Abb. 5b: Gesamt-Lipide (Mittelwerte)

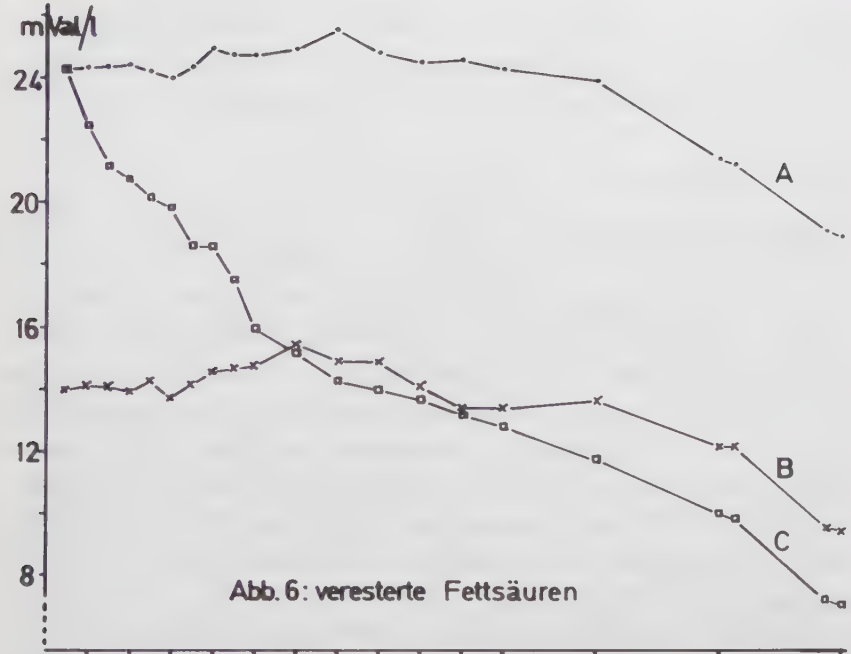


Abb. 6: veresterte Fettsäuren

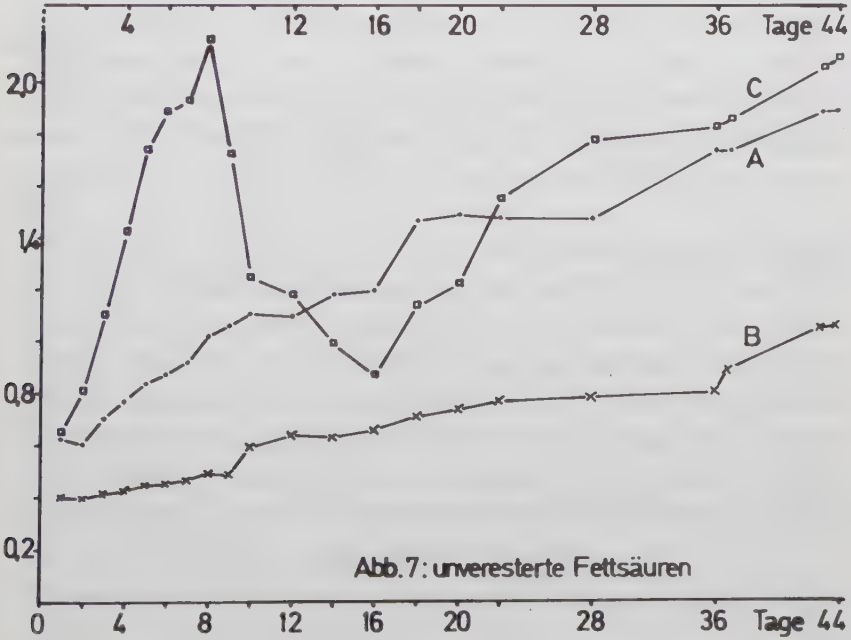


Abb. 7: unveresterte Fettsäuren

Resistenz gealterter Erythrozyten und schließlich auch ihrer Auflösung. Nach der Unterbrechung des Kohlenhydratstoffwechsels werden wahrscheinlich Lipide verbrannt. Dadurch ist die Abnahme der Lipidkonzentration zu erklären.

Veresterte Fettsäuren: Abb. 6, Tab. 4

Unveresterte Fettsäuren: Abb. 7, Tab. 5

Veresterte Fettsäuren werden während der Lagerung bei 4°C ins Plasma abgegeben, so daß sie bis zum 14. Tag um 5,6 % (A) bzw. bis zum 12. Tag um 10,5 % (B) zugenommen haben, um dann ziemlich geradlinig abzufallen. In den warmen Konserven setzt sofort ein Rückgang der Esterfettsäuren-Konzentration ein. Wieder, wie auch in allen folgenden Darstellungen, haben die Kurven A und C ungefähr den gleichen Ausgangswert, da diese Blutkonserven von denselben Spendern stammen. Nach 44 Tagen sind im Konservenpaar A noch 19 mVal/Liter vorhanden, bei C nur noch 7 mVal/Liter. Das sind noch 78% bzw. 29 % des Anfangswert. Vermutlich sind die Esterbindungen durch Lipasen aufgespalten worden.
Die freien Fettsäuren zeigen im Konservenpaar C einen enormen Anstieg um fast den vierfachen Ausgangsbetrag bis zum 8. Tag, um in den nächsten Tagen ebenso plötzlich zurückzugehen. Darauf folgt ein erneuter Anstieg bis zum Ende der Untersuchungszeit. Die kalten Konserven zeigen nicht diesen wellenförmigen sondern einen fast geradlinigen Verlauf, bei dem die Konzentrationen der freien Fettsäuren etwa um das 3- bzw. 2,5 fache zunehmen.

Gesamt-Cholesterin: Abb. 8, Tab. 6

Cholesterin wird beim Zerfall der Erythrozyten wahrscheinlich vor allem aus den Zellmembranen frei (76). Wir bestimmten Cholesterin sowohl manuell-konventionell als auch mit dem Autoanalyzer. Wie auch bereits andere Autoren (43, 68) fanden wir gute Übereinstimmung der Ergebnisse. Die Cholesterin-Bestimmung läßt sich noch verfeinern durch Berücksichtigung des Bilirubingehalts der Probe. Wir haben die Korrekturformel dafür bereits auf Seite 18 angeführt und in der graphischen Darstellung berücksichtigt.

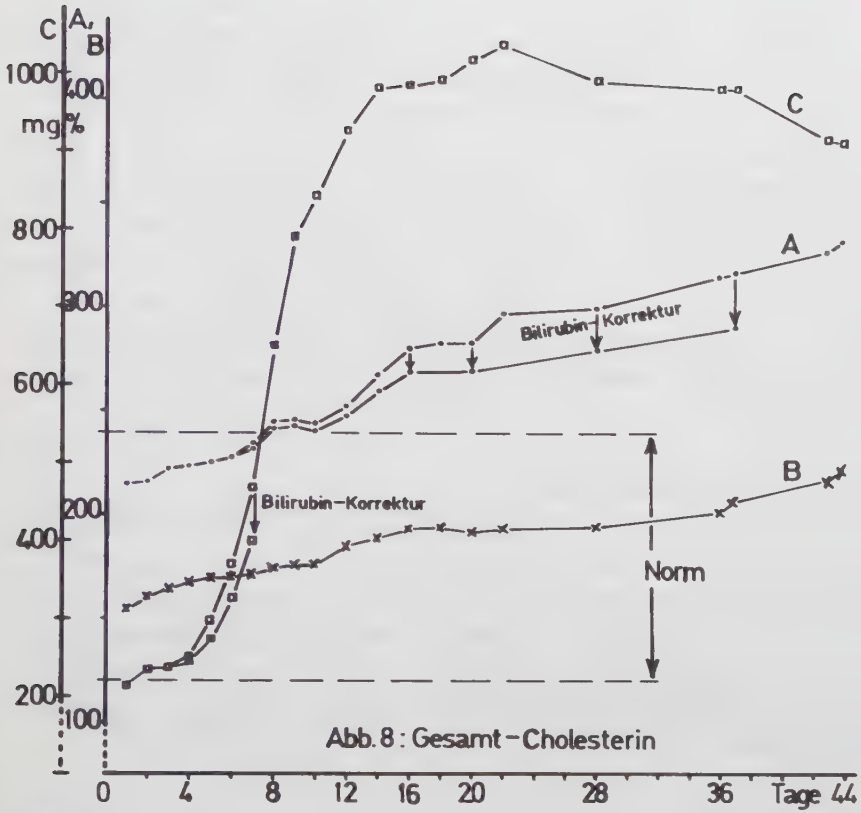


Abb. 8: Gesamt-Cholesterin

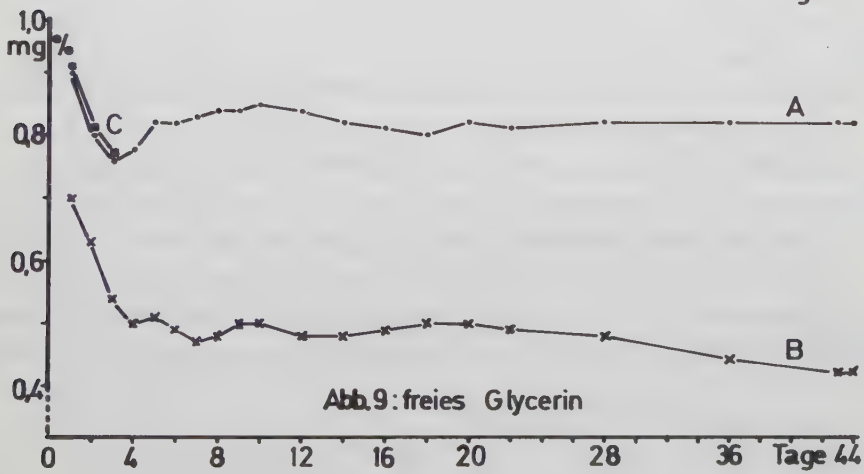


Abb. 9: freies Glycerin

Für das Konservenpaar B wird die Bilirubin-Toleranzgrenze nicht erreicht. Auch bleibt der Cholesterin-Anstieg hier während der 44 Tage im Normbereich unter 240 mg% (modifiziert entsprechend der Verdünnung durch den Stabilisator der Konserve, s.S. 14). Das Konservenpaar A hat dagegen mit einem Anfangswert von 215 mg% schon nach 8 Tagen den Normbereich überschritten. Ein erhöhter Bilirubinwert muß bereits ab dem 7. Tag berücksichtigt werden. Besonders stark ist der Cholesterin-Anstieg in den warmen Konserven. Von 215 mg% ausgehend beträgt der Cholesterin-Gehalt am 22. Tag 1034 mg% und fällt dann bis zum 44. Tag leicht ab auf 917 mg%. Allerdings bleibt hier der Bilirubin-Gehalt unberücksichtigt, da das Plasma der warmen Konserven nur bis zum 7. Tag zur Bestimmung des Bilirubins im Autoanalyzer untersucht werden konnte.

Freies Glycerin: Abb. 9, Tab. 7

Als erstes in der Reihe der enzymatischen Bestimmungen wurde das freie Glycerin untersucht. Während der Lagerung bei $4^{o}C$ fällt es in den ersten 3 Tagen um 15 % (A) bzw. in 7 Tagen um 33 % (B), um danach auf ziemlich konstante Werte einzupendeln. Leider war der Verlauf im Konservenpaar C nur über 3 Tage zu messen, da ab dem 4. Tag der Hämoglobin-Gehalt des Plasmas für photometrische Messungen trotz Reduzierung der Einsatzmenge zu hoch war.

Gesamt-Glycerin: Abb. 10, Tab. 8

Das Gesamtglycerin ließ sich in allen Konserven über 44 Tage bestimmen, da nach Verseifung und Enteiweißung das Substrat farblos war. Die Konservenpaare A und B unterscheiden sich auch in ihrem Gehalt an Gesamtglycerin stark. A und C liegen während der gesamten Versuchsdauer deutlich über dem Normalbereich, B gerade innerhalb. B enthält nur 30 % der Glycerinmenge von A. Trotzdem sind die Kurvenverläufe gleich. In A geht der Glyceringehalt während 44 Tagen um 14,9 %, in B um 14,4 % etwa gleichförmig zurück. In den warmen Konserven C fällt die Glycerin-Konzentration in 10 Tagen um 43 %, in den folgenden 34 Tagen nur noch um 6,3 % und zeigt damit im zweiten Teil der Kur-

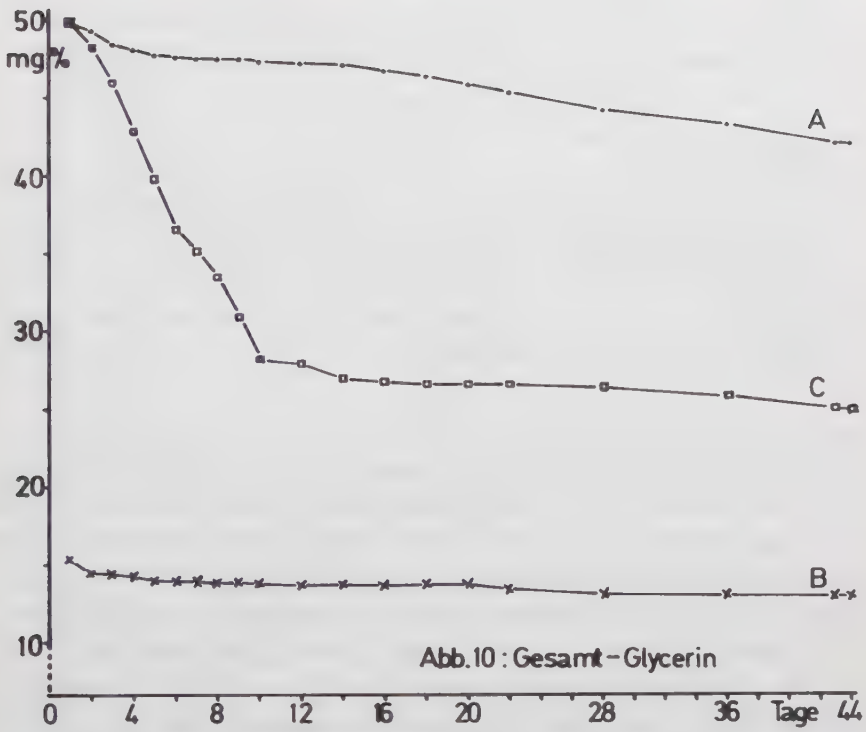


Abb. 10 : Gesamt – Glycerin

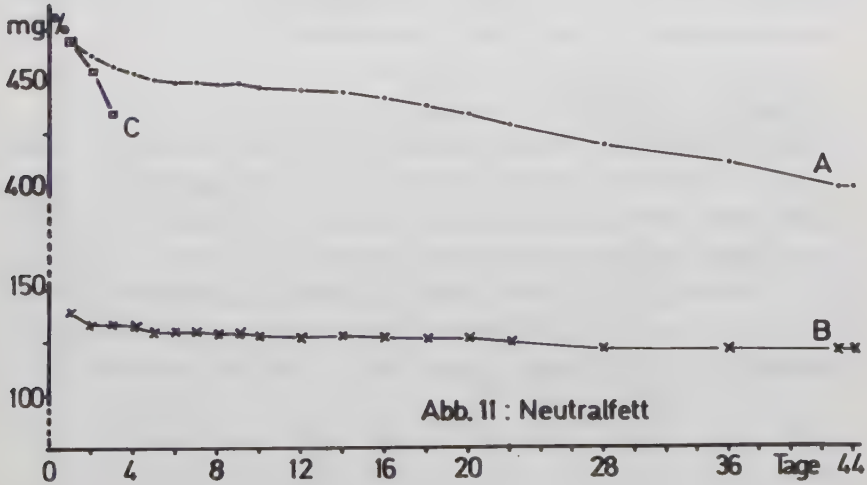


Abb. 11 : Neutralfett

ve eine etwa gleiche Abbaurate wie A und B.
Die Bestimmung des Esterglycerins ist ein einfacher rechnerischer Vorgang als Zwischenstufe zur Ermittlung des Neutralfetts.

Neutralfett: Abb. 11, Tab. 9
Das Neutralfett konnte nur in den kalten Konserven untersucht werden. Es fällt in allen Konserven etwa geradlinig ab. Absolut wird im Konservenpaar A mehr Neutralfett als in B umgesetzt, aber relativ etwa gleich viel, nämlich 15 % in A und 13,1 % in B.
Ergänzend zu den bisherigen Untersuchungen werden noch die Ergebnisse besprochen, die der Autoanalyzer lieferte.

Kalzium: Abb. 12, Tab. 10
Die Kalzium-Werte aller Konserven bewegen sich vom 1. Tag ab an der unteren Normschwelle. In den kalten Konserven gibt es keine wesentlichen Änderungen. Maximale Steigerungen liegen bei 2,1 % bzw. 2,5 %, und Unterschreitungen der Anfangswerte liegen in den ersten 20 Tagen im gleichen Bereich. Sie entsprechen damit etwa dem von SCHILY und EGGSTEIN (43, 68) gefundenen Variationskoeffizienten. Bis zum 37. Tag fallen die Kalziumwerte um 8,5% (A) bzw. 4,1 % (B). In den 37°C-Konserven dagegen sinkt der Kalzium-Spiegel innerhalb von 7 Tagen - länger waren keine Messungen möglich - um fast 24 %. Wahrscheinlich werden Kalzium-Ionen an organische Säuren gebunden und entziehen sich der komplexometrischen Bestimmung.

Anorganisches Phosphat: Abb. 13, Tab. 11
Anorganisches Phosphat ist ein Abbauprodukt des ATP. Wie bereits ausführlich beschrieben ist die sinkende ATP-Konzentration in der Konserve der limitierende Faktor der Alterung. Entsprechend steigt im Plasma der Gehalt an anorganischem Phosphat. In Abb. 13 ist der fast lineare Anstieg zu erkennen. Am 1. Tag ist in allen Konserven etwa 2,4 mg% anorganisches Phosphat enthalten. Am 6. bzw. 7. Tag wird in den kalten Konserven die obere Normgrenze überschritten. Nach 20 Tagen - noch ist das ACD-Blut transfundierbar - sind

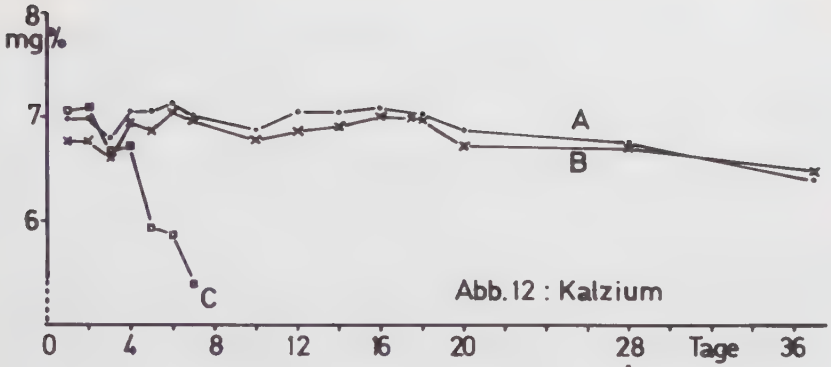


Abb. 12 : Kalzium

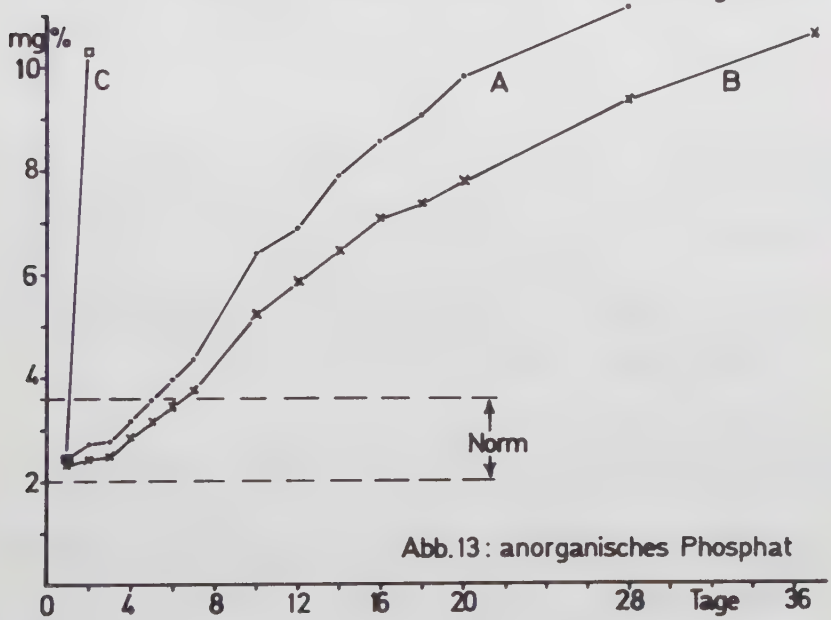


Abb. 13 : anorganisches Phosphat

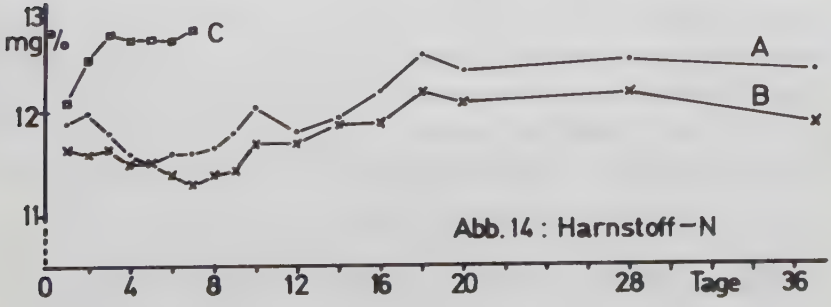


Abb. 14 : Harnstoff–N

in den beiden Konserven A 405 % und in B 331 % der Anfangskonzentration enthalten. Bis zum Ende der Untersuchungszeit steigen diese Werte weiter stark an. Während der Lagerung bei 37°C kann der Autoanalyzer nur bis zum 2. Tag den Phosphatgehalt messen. Er steigt innerhalb eines Tages von 2,45 mg% auf 10,30 mg%. Das sind 420 % mehr.

Harnstoff-Stickstoff: Abb. 14, Tab. 12
Die Konzentrationsänderungen des Harnstoff-N bewegen sich sowohl in kalten Konserven wie auch in warmen innerhalb der Normgrenzen, In Abb. 14 sind lediglich leichte Schwankungen um den Ausgangswert von etwa 12 mg% zu erkennen.

Gesamt-Bilirubin: Abb. 15, Tab. 13
Wir haben gezeigt, in welchem Maß das Hämoglobin im Plasma zunimmt. Entsprechend ist auch ein Anwachsen des Bilirubin-Gehalts zu erwarten. Die Ausgangswerte am 1. Tag liegen alle - zum Teil gerade noch - im Normbereich, der aber bis zum 12. Tag überall überschritten ist. Bis zum 36. Tag sind die Werte um 550 % bzw. 500 % in den kalten Konserven und in den warmen während 7 Tagen um fast 1100 % angestiegen.

Albumin: Abb. 16, Tab. 14
Albumin zeigt keine starken Veränderungen im Laufe der Lagerzeit bei 4°C. Es wird ein leichter, unbedeutender Anstieg kaum über den Normbereich hinaus registriert. Lediglich bei 37°C steigt die Kurve ab dem 4. Tag plötzlich geradlinig an. Sie konnte nur bis zum 7. Tag verfolgt werden.

Gesamt-Eiweiß: Abb. 17, Tab. 15
Gesamt-Eiweiß nimmt bei Kühlschrank-Lagerung im Laufe von 37 Tagen stetig zu. Das Konservenpaar A überschreitet die obere Normgrenze nach dem 7. Tag und erreicht mit 37 Tagen eine Zunahme um knapp 160 %. Die beiden Konserven B erreichen nur 124 %. Im Wasserbad von 37°C erreichen die beiden Konserven

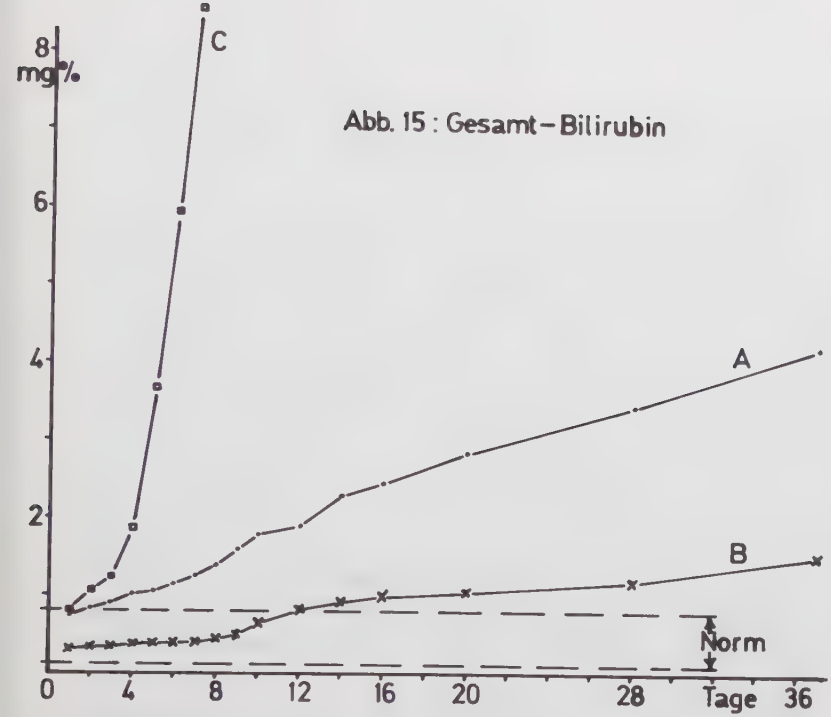


Abb. 15 : Gesamt – Bilirubin

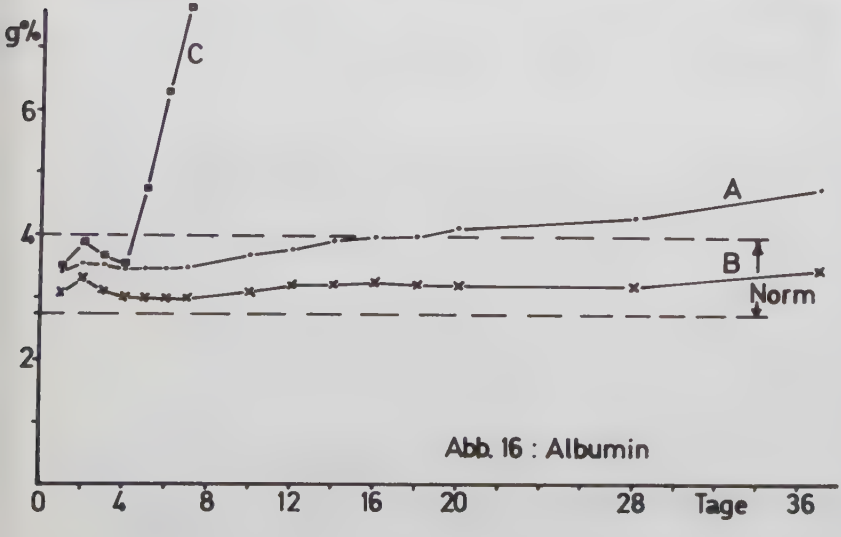


Abb. 16 : Albumin

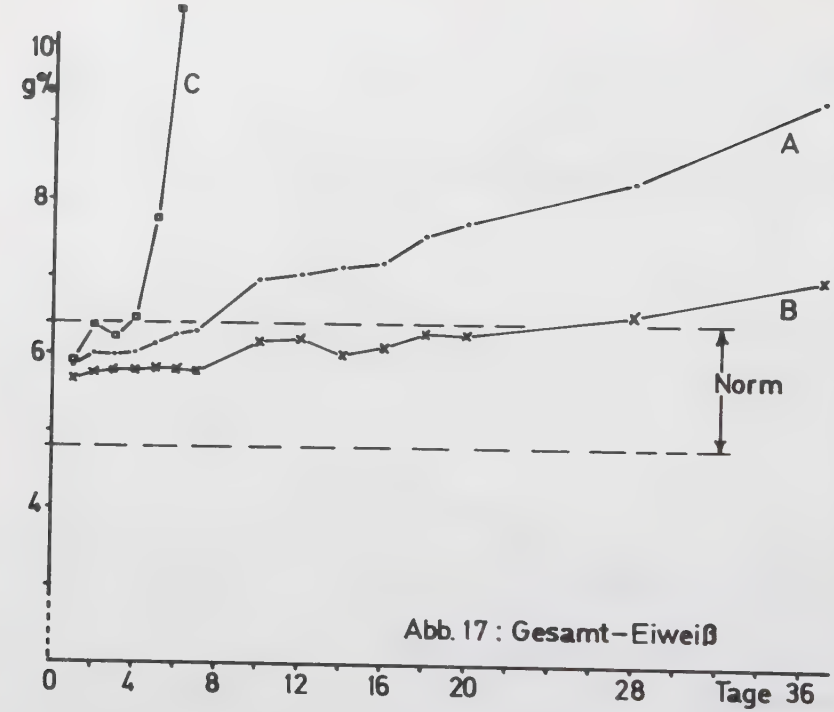


Abb. 17 : Gesamt–Eiweiß

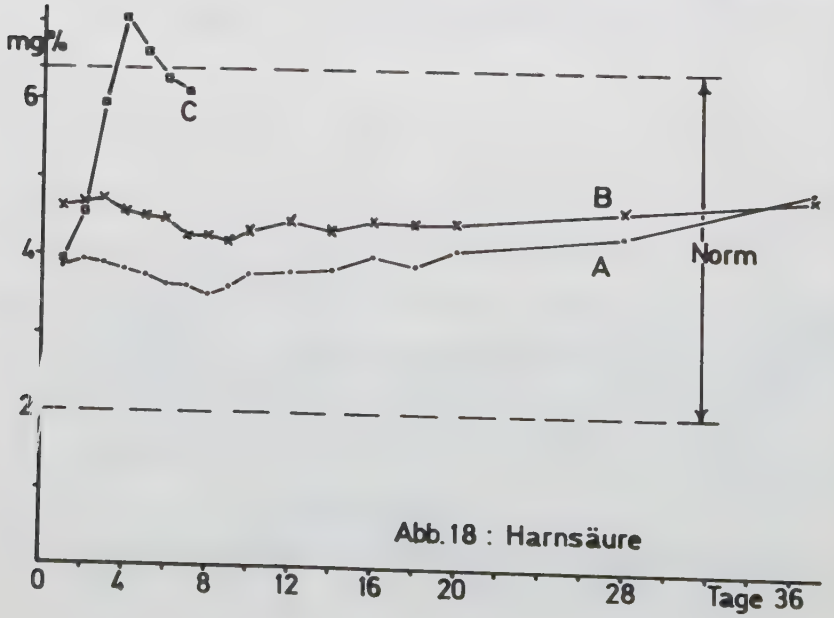


Abb. 18 : Harnsäure

eine größere Steigerung von 177 % in 6 Tagen.

Harnsäure: Abb. 18, Tab. 16
Harnsäure ist ein Stoffwechselendprodukt aus dem Abbau des ATP, dessen Konzentration in den Konservenpaaren A und B nur minimalen Schwankungen unterliegt. Lediglich bei 37°C kommt es zu einem steilen Anstieg bis auf 7 mg% am 4. Tag als Maximum und darauf zu einem Rückgang.

Glucose: Abb. 19, Tab. 17
Alle Konserven enthielten etwa 346 mg% Glucose. Bei 4°C wird vor allem in den ersten 6 Tagen viel Glucose verstoffwechselt. Danach wird Glucose stetig abgebaut bis auf etwa 47,5 % (A) bzw. 43 % (B) am 37. Tag. Im warmen Milieu läuft die Glykolyse auf Höchsttouren. Innerhalb eines Tages werden anfangs 150 mg% Glucose umgesetzt. Danach werden die Raten geringer. Am 7. Tag sind nur noch weniger als 15 % der Glucose vorhanden. Als weiterer Verlauf der Kurven wäre ein "Ausschleichen" zu erwarten, bedingt durch Substrat-Mangel und Hexokinase-Inaktivität.
Abschließend wird noch die Entwicklung dreier Enzyme gestreift.

Lactatdehydrogenase: Abb. 20, Tab. 18
Die Lactatdehydrogenase steigt steil linear an, besonders natürlich im warmen Milieu, so daß sie nur über wenige Tage mit dem Autoanalyzer zu messen war.

Alkalische Phosphatase: Abb. 21, Tab. 19
Ähnliches gilt für die alkalische Phosphatase. In 36 Tagen kommt es zu Steigerungen von 240 % bzw. 197 % im kalten Milieu und von 330 % in 7 Tagen bei 37°C.

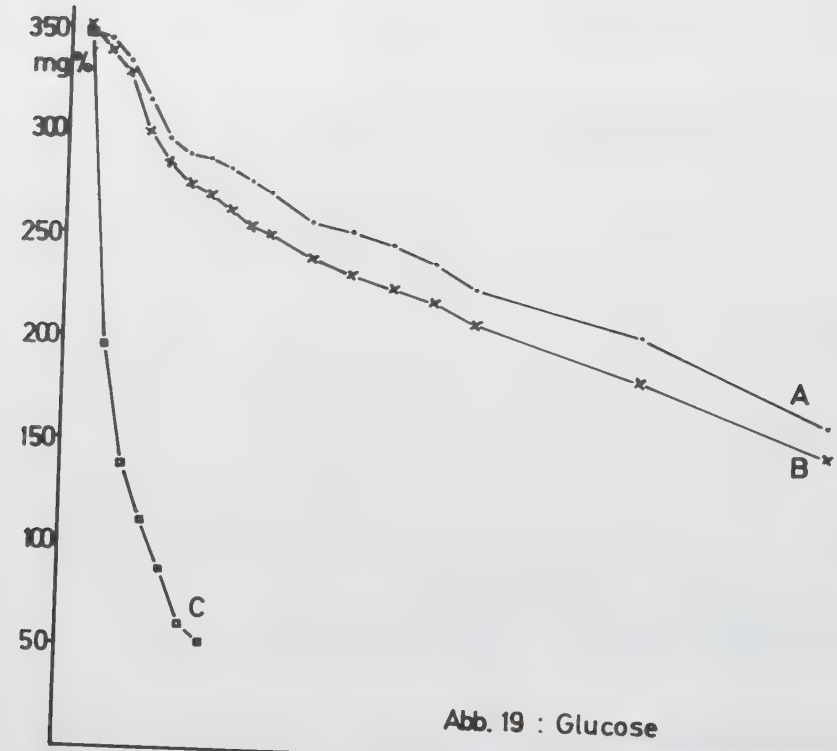


Abb. 19 : Glucose

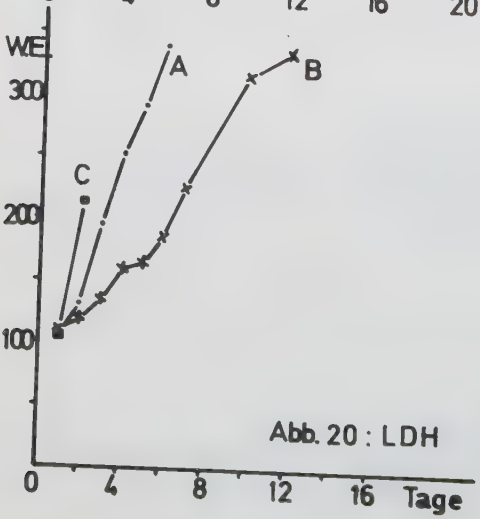


Abb. 20 : LDH

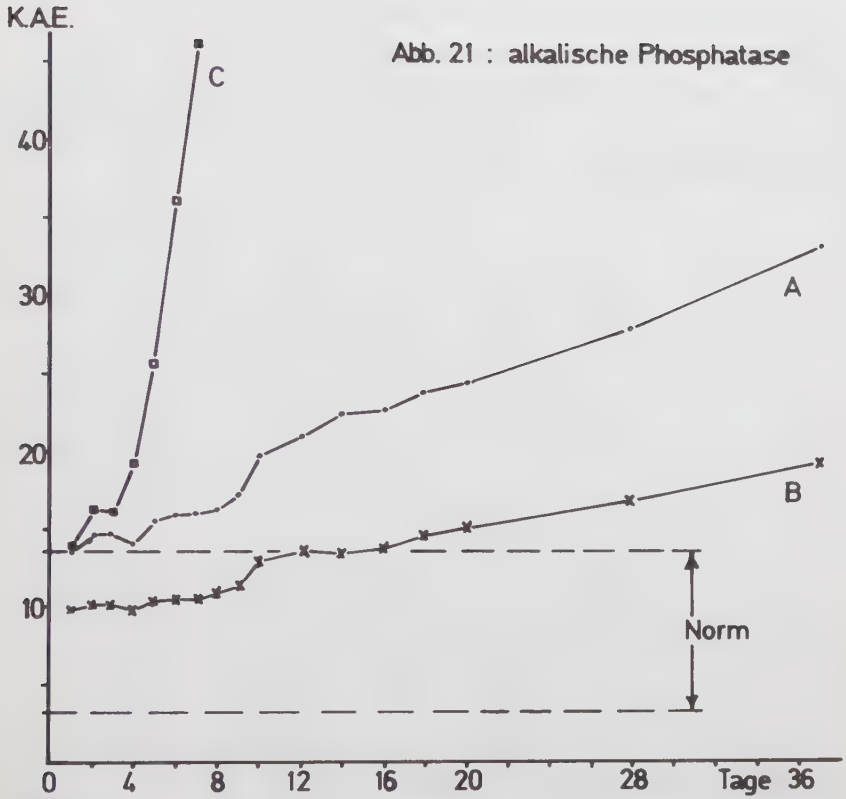


Abb. 21 : alkalische Phosphatase

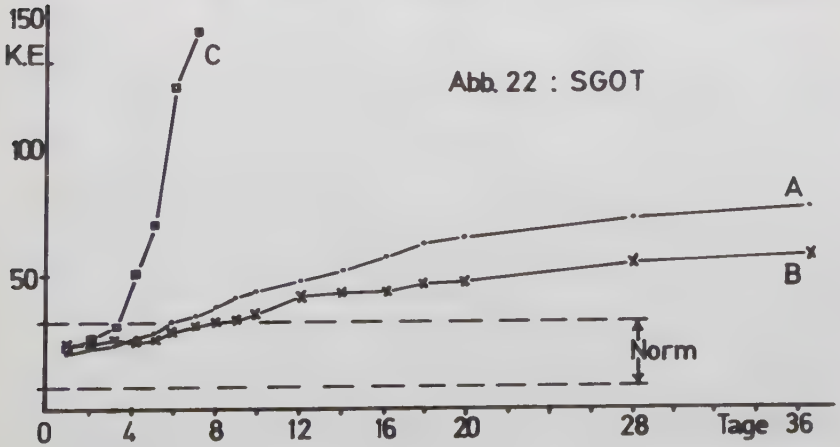


Abb. 22 : SGOT

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase: Abb. 22, Tab. 20

Auch die Zunahme der SGOT im Plasma geht in den kalten Konservenpaaren geradlinig vor sich. Die SGOT nimmt in 36 Tagen um 364 % bzw. um 254 % zu. Im warmen Milieu ist der Anstieg wieder steiler: in 7 Tagen werden 670 % mehr freigesetzt als am 1. Tag vorhanden waren.

Tab. 1 : Hämatokrit,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	43,5	42	42,8	39,5	42,3	41	43,5	42	42,8
2.	43	41,5	42,3	39,5	42,1	4o,8	43,5	45,5	44,5
3.	43,5	41	42,3	39,7	41	4o,4	33	4o	36,5
4.	43,3	41,5	42,4	39	4o	39,5	33,5	35,5	34,5
5.	43,2	41,3	42,3	38,5	42,	4o	37,5	36	36,7
6.	43,5	41,5	42,5	38	41,6	39,8	38,8	38	38,4
7.	43,2	42	42,6	38,3	41,5	39,9	37,3	37,5	37,4
8.	43,2	41,3	42,3	38,5	41,5	4o	32,5	32	32,3
9.	-	-	-	-	-	-	23,3	21,7	22,5
1o.	42,5	41,8	42,2	37,5	41,5	39,5	13,3	8,5	11
12.	42	41,6	41,8	37	41	39	2	2	2
14.	41,7	41,7	41,7	37	41	39	2	2	2
16.	42	41	41,5	37,5	4o,5	39	2	2	2
18.	42	41	41,5	37	39,4	38,2	-	-	-
22.	4o	4o,8	4o,4	37	39,6	38,3			
28.	4o	4o,8	4o,4	36,4	4o	38,2			
36.	39	41	4o	37	38,5	37,8			
44.	38	4o	39	36	37,5	36,7			

Tab. 2 : Hämoglobin-Gehalt im Plasma,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (g%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	o,36o	o,o72	o,216	o,o	o,o36	o,o18	o,36o	o,o72	o,216
2.	o,378	o,1o8	o,243	o,o36	o,o72	o,o54	o,378	o,126	o,252
5.	o,432	o,18o	o,3o6	o,o36	o,o72	o,o54	1,368	1,134	1,251
8.	o,684	o,27o	o,477	o,o36	o,o72	o,o54	6,318	6,o48	6,183
12.	o,936	o,522	o,729	o,126	o,144	o,135	12,852	12,384	12,618
14.	1,oo8	o,576	o,792	o,198	o,198	o,198	12,78o	12,9o6	12,843
18.	1,152	o,684	o,918	o,252	o,252	o,252	13,14o	12,888	13,o14
22.	1,332	o,9oo	1,116	o,3o6	o,27o	o,288	12,9o6	12,582	12,744
28.	1,6o2	1,2o6	1,4o4	o,432	o,432	o,432	14,148	14,22o	14,184
36.	1,62o	1,4o4	1,512	o,576	o,576	o,576	13,o68	13,968	13,518
43.	1,962	1,6o2	1,782	o,72o	o,81o	o,765	13,212	13,788	13,5oo
44.	2,o16	1,634	1,825	o,781	o,853	o,817	13,392	14,112	13,752

Tab. 3 : Gesamt-Lipide,

Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	146o	1174	1317	795	863	829	1465	118o	1322
2.	1514	1186	135o	792	875	833	1751	1451	16o1
3.	1565	1237	14o1	84o	9o5	872	18oo	1457	1629
4.	1626	1234	143o	883	94o	911	181o	147o	164o
5.	1632	1287	146o	878	978	928	1798	1473	1636
6.	1715	1289	15o2	894	994	944	1825	1475	165o
7.	1718	1328	1523	9o7	1o37	972	182o	15oo	166o
8.	1736	1367	1551	936	1o59	998	179o	148o	1635
9.	1739	1391	1565	94o	1o76	1oo8	1526	1351	1439
1o.	17o8	1391	1549	927	1o14	97o	15o8	13o7	14o7
12.	17o2	14o6	1554	921	1o6o	991	1482	1272	1377
14.	17o3	1381	1542	935	1o82	1oo8	1411	1273	1342
16.	1683	1386	1535	932	1o76	1oo4	14o8	1264	1336
18.	1717	1393	1555	926	1o77	1oo1	1423	13o6	1365
2o.	1722	14o5	1564	952	11o4	1o28	1478	1373	1426
22.	1745	1473	16o9	944	1o92	1o18	1425	1339	1382
28.	1742	1444	1596	959	1o89	1o24	132o	1334	1327
36.	1776	1525	1668	1o14	116o	1o87	1388	1281	1333
37.	1816	1542	1679	1o21	1157	1o89	135o	132o	1335
43.	1913	1491	17o2	1o54	1187	1121	1333	1247	129o
44.	1911	1489	17oo	1o54	1179	1119	1332	1257	1295

Tab. 4 : veresterte Fettsäuren,

Einzelwerte aus 6 Konserven u. Mittelwerte A,B,C (mVal/Liter)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	28,o3	2o,44	24,24	11,89	15,98	13,94	27,95	2o,51	24,23
2.	28,25	2o,37	24,31	11,95	16,15	14,o5	26,1	18,74	22,42
3.	28,31	2o,41	24,36	11,68	16,38	14,o3	24,46	17,82	21,14
4.	28,44	2o,34	24,39	11,77	16,o5	13,91	23,69	17,77	2o,73
5.	28,o	2o,43	24,21	12,48	16,o2	14,25	23,61	16,65	2o,13
6.	28,o4	19,95	24,o	11,89	15,52	13,7	22,95	16,64	19,8
7.	28,26	2o,47	24,37	12,25	15,95	14,1	21,59	15,58	18,58
8.	28,97	2o,93	24,95	12,59	16,49	14,54	21,77	15,32	18,54
9.	28,62	2o,89	24,75	12,77	16,48	14,62	2o,26	14,78	17,52
1o.	28,89	2o,62	24,76	13,13	16,43	14,78	18,54	13,35	15,95

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 12.	28,19	2o,66	24,93	14,o	16,8	15,4	16,59	13,8	15,2
14.	29,88	21,3	25,59	13,22	16,64	14,93	15,43	13,o3	14,23
16,	28,9	2o,89	24,9	13,37	16,43	14,9	15,23	12,7	13,96
18.	29,23	19,9	24,56	13,72	15,38	14,55	14,85	12,43	13,64
2o.	29,76	19,56	24,66	13 ,o7	13,75	13,41	15,o8	11,33	13,2
22.	29,8	18,95	24,37	13,o6	13,7	13,38	14,87	1o,87	12,87
28.	29,9	18,14	24,o2	13,36	14,o	13,68	12,42	11,o6	11,74
36.	26,21	16,74	21,47	11,24	13,o7	12,16	11,o	9,o2	1o,o1
37.	26,11	16,43	21,27	11,3	12,97	12,14	1o,64	8,98	9,81
43.	23,48	14,8	19,14	8,16	1o,86	9,51	7,8	6,6	7,2
44.	23,3	14,7	19,o	8,12	1o,68	9,4	7,6	6,48	7,o4

Tab. 5 : unveresterte Fettsäuren,

Einzelwerte aus 6 Konserven u. Mittelwerte A,B,C (mVal/Liter)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	o,732	o,512	o,622	o,394	o,4o6	o,4	o,764	o,534	o,649
2.	o,7o4	o,497	o,6	o,385	o,4o1	o,393	o,993	o,625	o,8o9
3.	o,824	o,576	o,7	o,392	o,424	o,4o8	1,237	o,971	1,1o4
4.	o,89	o,647	o,768	o,388	o,463	o,425	1,61	1,24	1,425
5.	o,954	o,716	o,835	o,38	o,5o4	o,442	1,838	1,65	1,744
6.	1,o11	o,729	o,87	o,378	o,52	o,449	2,o4	1,738	1,889
7.	1,o81	o,761	o,921	o,399	o,53	o,465	2,18	1,677	1,928
8.	1,211	o,826	1,o18	o,429	o,552	o,491	2,217	2,119	2,168
9.	1,262	o,852	1,o57	o,43	o,549	o,49	1,947	1,5o3	1,725
1o.	1,334	o,879	1,1o7	o,51	o,673	o,591	1,356	1,135	1,246
12.	1,3o3	o,885	1,o94	o,624	o,65	o,637	1,255	1,1o1	1,178
14.	1,443	o,917	1,18	o,63	o,62	o,625	o,989	o,988	o,988
16.	1,415	o,976	1,195	o,615	o,693	o,654	o,959	o,785	o,872
18.	1,696	1,232	1,464	o,664	o,748	o,7o6	1,414	o,866	1,14
2o.	1,725	1,255	1,49	o,67	o,81	o,74	1,328	1,118	1,223
22.	1,654	1,3o3	1,478	o,687	o,837	o,762	1,6o3	1,496	1,55
28.	1,645	1,3	1,472	o,696	o,862	o,78	1,814	1,738	1,776
36.	1,919	1,542	1,736	o,749	o,845	o,797	1,975	1,678	1,827
37.	1,9	1,571	1,736	o,783	o,978	o,88	1,982	1,729	1,855
43.	2,o39	1,741	1,89	o,89	1,19	1,o4	2,o32	2,o8	2,o56
44.	2,o38	1,752	1,895	o,91	1,188	1,o49	2,o8o	2,13	2,1o5

Tab. 6 : Gesamt-Cholesterin,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)
mit Berücksichtigung des Bilirubingehalts (2.Zahl)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	213	217	215	15o	16o	155	212	218	215
2.	218	214	216	156	166	161	228	242	235
3.	219	225	222	161	169	165	23o	248	239
4.	222	224	223	165	171	168	247/24o	253	25o/247
5.	223	227	225	163	177	17o	297/271	296/28o	296/275
6.	226/225	228	227	165	175	17o	374/324	361/332	368/328
7.	235/233	233	234/233	167	175	171	47o/392	468/4o5	469/399
8.	247/243	243	245/243	17o	178	174	645/ -	655/ -	65o/ -
9.	249/243	243	246/243	17o	182	176	775/ -	8o5/ -	79o/ -
1o.	248/24o	24o	244/24o	168	184	176	833/ -	851/ -	842/ -
12.	253/244	251	252/248	177	193	185	923/ -	93o/ -	927/ -
14.	274/26o	261/259	268/26o	183	195	189	957/ -	1oo5/-	981/ -
16.	282/267	278/274	28o/27o	185	2o1	193	962/ -	1oo5/-	984/ -
18.	287/ -	279/ -	283/ -	187	199	193	98o/ -	1oo8/-	994/ -
2o.	284/265	282/274	283/27o	187	197	192	1o15/-	1o27/-	1o21/-
22.	296/ -	3oo/ -	298/ -	188	198	193	1o27/-	1o41/-	1o34/-
28.	3o2/277	298/284	3oo/28o	189	199	194	992/ -	991/-	992/ -
36.	313/ -	319/ -	316/ -	195	2o7	2o1	965/ -	1oo4/-	984/ -
37.	317/289	319/292	318/291	198	214	2o6	974/ -	997/ -	985/ -
43.	325/ -	329/ -	327/ -	2o9	225	217	9oo/ -	94o/ -	92o/ -
44.	33o/ -	336/ -	333/ -	216	228	222	895/ -	939/ -	917/ -

Tab. 7 : freies Glycerin,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	1,225	o,535	o,9	o,735	o,665	o,7	1,295	o,525	o,91
2.	1,o5o	o,5o7	o,8	o,7	o,56	o,63	1,12	o,5o7	o,81
3.	1,o85	o,437	o,76	o,542	o,525	o,53	1,o15	o,525	o,77
4.	1,o85	o,472	o,78	o,525	o,472	o,5	-	-	-
5.	1,155	o,5o7	o,82	o,542	o,472	o,51			
6,	1,19	o,455	o,82	o,525	o,455	o,49			
7.	1,19	o,472	o,83	o,5o7	o,437	o,47			
8.	1,19	o,49	o,84	o,525	o,437	o,48			
9.	1,19	o,49	o,84	o,56	o,437	o,5			

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1o.	1,19	o,525	o,85	o,525	o,472	o,5	-	-	-
12.	1,225	o,455	o,84	o,49	o,472	o,48			
14.	1,19	o,455	o,82	o,525	o,437	o,48			
16.	1,155	o,455	o,81	o,525	o,455	o,49			
18.	1,155	o,437	o,8	o.525	o,472	o,5			
2o.	1,19	o,455	o,82	o,5o7	o,49	o,5			
22.	1,155	o,455	o,81	o,49	o,49	o,49			
28.	1,155	o,49	o,82	o,49	o,472	o,48			
36.	1,19	o,455	o,82	o,49	o,385	o,44			
43.	1,19	o,455	o,82	o,49	o,35	o,42			
44.	1,19	o,455	o,82	o,525	o,332	o,42			

Tab. 8 : Gesamt-Glycerin,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	65,27	34,o4	49,65	11,39	19,23	15,31	65,29	34,o8	49,68
2.	64,19	33,69	48,94	11,15	17,88	14,52	64,56	31,85	48,2
3.	63,75	32,91	48,33	1o,53	18,37	14,46	6o,76	31,11	45,94
4.	63,5	32,75	48,13	1o,8	17,9	14,35	56,59	29,15	42,88
5.	62,93	32,55	47,74	1o,9	17,15	14,o3	52,67	26,95	39,81
6.	62,67	32,42	47,65	1o,93	17,18	14,o5	49,24	23,89	36,57
7.	63,45	31,6	47,53	11,o5	17,15	14,o5	47,28	23,15	35,22
8.	62,84	32,o9	47,47	1o,9	16,9	13,9	44,96	22,17	33,56
9.	62,23	32,83	47,53	11,o2	17,o2	14,o2	39,12	22,7	3o,91
1o.	62,11	32,46	47,28	1o,53	17,15	13,84	35,52	2o,95	28,24
12.	62,84	31,6	47,22	1o,29	17,15	13,72	34,54	21,44	27,99
14.	62,43	3o,83	47,13	1o,23	17,46	13,84	33,2	2o,95	27,o7
16.	62,23	31,36	46,8	1o,17	17,27	13,72	33,32	2o,33	26,83
18.	61,o2	31,87	46,45	1o,53	17,o3	13,78	32,83	2o,33	26,58
2o.	61,14	31,86	46,o	1o,17	17,27	13,72	33,32	19,97	26,64
22.	6o,o2	3o,87	45,45	9,92	17,o3	13,47	33,o7	2o,21	26,64
28.	59,o4	29,77	44,41	9,43	16,9	13,17	32,83	2o,33	26,58
36.	58,19	28,91	43,55	9,68	16,54	13,11	32,o9	2o,o9	26,o9
43.	56,72	28,o	42,36	9,68	16,54	13,11	3o,81	19,54	25,17
44.	56,6	28,o	42,3	9,55	16,66	13,11	3o,38	19,84	25,11

Tab. 9 : Neutralfett,

Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	619,1	32o,8	47o	1o2,5	178,6	14o,5	626,3	323,7	47o
2.	6o7,4	319,2	463,3	1oo,5	166,7	133,6	61o,3	3o1,5	455,9
3.	6o9,6	31o,4	46o	96,5	171,7	134,1	574,7	294,3	434,5
4.	6o2,4	312,5	454,5	99,2	168,1	133,6	-	-	-
5.	594,5	3o8,5	451,5	99,7	16o,4	13o			
6.	592,6	3o8,6	45o,6	1oo,3	161,1	13o,7			
7.	599,3	299,7	449,5	1o2,3	16o,9	131,6			
8.	593,1	3o4	448,5	1oo,7	158,4	129,5			
9.	587,2	311,1	449,1	1oo,7	162	131,3			
1o.	586	3o7,2	447,6	96,3	159,9	128,1			
12,	592,8	299,7	446,2	94,3	16o,4	127,3			
14.	594,8	297,8	446,3	93,3	163,7	128,5			
16.	587,5	297,3	442,4	92,8	161,8	127,3			
18.	576,3	3o2,8	439,2	96,3	159,3	127,8			
2o.	571,9	297,3	434,6	92,9	161,4	127,1			
22.	566,3	292,6	429,4	9o,7	159,4	125			
28.	556,9	281,6	419,2	86,4	159,3	122,8			
36.	548,3	273,7	411	88,4	155,9	122,1			
43.	534,2	265	399,6	88,4	155,7	122			
44.	533	265	399	86,9	156,6	121,7			

Tab. 1o : Kalzium,

Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	6,8	7,2	7,o	6,7	6,86	6,78	6,86	7,28	7,o7
2,	6,82	7,18	7,o	6,68	6,9	6,79	6,9	7,3	7,1
3.	6,62	7,o	6,81	6,5	6,76	6,63	6,23	7,11	6,67
4.	6,9	7,26	7,o8	6,89	7,o1	6,95	5,88	7,6	6,74
5.	6,86	7,3	7,o8	6,81	6,95	6,88	5,82	6,o8	5,95
6.	7,o1	7,29	7,15	6,96	7,16	7,o6	5,86	5,9	5,88
7.	6,79	7,25	7,o2	6,92	7,o8	7,o	5,4	5,4	5,4
1o.	6,6	7,2	6,9	6,73	6,87	6,8	-	-	-
12.	6,88	7,28	7,o8	6,78	7,o	6,89			
18.	6,87	7,21	7,o4	6,97	7,o5	7,o1			
2o.	6,7	7,1	6,9	6,6	6,9	6,75			
28.	6,6	6,96	6,78	6,6	6,9	6,75			
37.	6,31	6,51	6,41	6,25	6,75	6,5			

Tab. 11 : anorganisches Phosphat,

Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)

Konserven	1	+	2	=	A	3	+	4	=	B	5	+	6	=	C
Tage 1.	2,47		2,39		2,43	2,4		2,33		2,36	2,52		2,4		2,46
2.	2,81		2,64		2,72	2,53		2,37		2,45	1o,5		1o,1		1o,3
3.	2,92		2,72		2,82	2,54		2,45		2,5	-		-		-
4.	3,3		3,o7		3,18	2,91		2,79		2,85					
5.	3,6		3,59		3,59	3,29		3,o6		3,17					
6.	4,o7		3,89		3,98	3,52		3,41		3,46					
7.	4,39		4,34		4,36	3,79		3,78		3,79					
1o.	6,4		6,41		6,4	5,21		5,28		5,24					
12.	6,76		7,o3		6,9	5,72		6,o1		5,86					
14.	7,7		8,12		7,91	6,42		6,54		6,48					
16.	8,25		8,95		8,6	7,1		7,o9		7,1					
18.	8,58		9,6		9,o9	7,3		7,42		7,36					
2o.	9,2		1o,5		9,85	7,7		7,92		7,81					
28.	11,1		11,3		11,2	9,o3		9,75		9,4					
37.	-		-		-	1o,5		1o,9		1o,7					

Tab. 12 : Harnstoff-N,

Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)

Konserven	1	+	2	=	A	3	+	4	=	B	5	+	6	=	C
Tage 1.	12,1		11,7		11,9	11,2		12,1		11,65	12,2		12,o		12,1
2.	12,2		11,8		12,o	11,2		12,o		11,6	12,5		12,5		12,5
3.	12,o		11,6		11,8	11,2		12,1		11,65	13,o		12,5		12,75
4.	11,9		11,3		11,6	11,o		12,o		11,5	12,9		12,5		12,7
5.	11,8		11,2		11,5	11,o		12,o		11,5	13,o		12,4		12,7
6.	12,o		11,2		11,6	11,o		11,8		11,4	12,9		12,5		12,7
7.	12,o		11,2		11,6	11,o		11,6		11,3	13,o		12,6		12,8
8.	12,1		11,2		11,65	11,1		11,7		11,4	-		-		-
9.	12,1		11,5		11,8	11,2		11,7		11,45					
1o.	12,3		11,8		12,o5	11,5		11,9		11,7					
12.	12,o		11,6		11,8	11,4		12,o		11,7					
14.	12,1		11,8		11,95	11,3		12,5		11,9					
16.	12,4		12,o		12,2	11,6		12,2		11,9					
2o.	12,7		12,1		12,4	11,6		12,6		12,1					
28.	12,9		12,1		12,5	11,7		12,7		12,2					
37.	12,7		12,1		12,4	11,6		12,2		11,9					

Tab. 13 : Gesamt-Bilirubin,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	1,o8	o,47	o,77	o,25	o,37	o,31	1,1	o,49	o,79
2.	1,18	o,5	o,84	o,26	o,39	o,33	1,4	o,7	1,o5
3.	1,28	o,52	o,9	o,28	o,42	o,35	1,55	o,91	1,23
4.	1,39	o,66	1,o2	o,31	o,44	o,37	2,28	1,39	1,84
5.	1,49	o,68	1,o8	o,31	o,48	o,4	4,13	3,12	3,62
6.	1,64	o,71	1,17	o,28	o,49	o,39	6,5	5,36	5,93
7.	1,75	o,79	1,27	o,29	o,51	o,4	9,25	7,85	8,55
8.	1,9	o,88	1,39	o,34	o,55	o,45	-	-	-
9.	2,o8	1,1	1,59	o,38	o,62	o,5			
1o.	2,27	1,32	1,8	o,46	o,85	o,65			
12.	2,37	1,41	1,89	o,78	o,91	o,84			
14.	2,88	1,71	2,3	o,86	1,o	o,93			
16.	3,o3	1,9	2,46	o,92	1,o7	1,o			
2o.	3,4	2,34	2,87	o,99	1,14	1,o7			
28.	3,97	2,95	3,46	1,1	1,27	1,19			
37.	4,29	4,2	4,24	1,5	1,61	1,55			

Tab. 14 : Albumin,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (g%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	3,7	3,32	3,51	2,99	3,13	3,o6	3,72	3,4	3,56
2.	3,86	3,45	3,65	3,o3	3,61	3,32	4,1	3,65	3,87
3.	3,84	3,4	3,62	3,o1	3,2	3,1	3,66	3,68	3,67
4.	3,75	3,35	3,55	2,9	3,1	3,o	3,91	3,2	3,55
5.	3,8	3,34	3,57	2,94	3,1	3,o2	5,o1	4,51	4,76
6.	3,81	3,31	3,56	2,9	3,1	3,o	6,6	6,o	6,3
7.	3,85	3,31	3,58	2,9	3,o5	2,98	8,o5	7,25	7,65
1o.	3,98	3,55	3,77	3,o	3,2	3,1	-	-	-
12.	4,11	3,61	3,86	3,o9	3,3	3,2			
14.	4,22	3,66	3,94	3,11	3,3	3,2			
16.	4,26	3,7	3,98	3,2	3,31	3,25			
18.	4,29	3,73	4,o1	3,13	3,28	3,21			
2o.	4,38	3,86	4,12	3,11	3,3	3,21			
28.	4,58	4,o1	4,3	3,11	3,3	3,21			
37.	4,95	4,65	4,8	3,44	3,59	3,51			

Tab. 15 : Gesamt-Eiweiß,

Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (g%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	6,11	5,63	5,87	5,39	5,91	5,65	6,13	5,7	5,91
2.	6,29	5,7	6,o	5,45	6,o5	5,75	6,53	6,21	6,37
3.	6,27	5,68	5,98	5,41	6,o1	5,71	6,o1	6,41	6,21
4.	6,4	5,75	6,o7	5,48	6,o9	5,78	6,34	6,58	6,46
5.	6,47	5,8	6,13	5,5	6,1	5,8	8,o6	7,41	7,74
6.	6,68	5,83	6,25	5,5	6,1	5,8	11,23	9,73	1o,48
7.	6,72	5,89	6,3	5,5	6,o3	5,77	-	-	-
1o.	7,32	6,6	6,96	5,74	6,57	6,16			
12.	7,5	6,6	7,o5	5,8	6,6	6,2			
14.	7,75	6,53	7,14	5,62	6,36	5,99			
16.	7,62	6,76	7,19	5,81	6,41	6,11			
18.	7,92	7,18	7,55	5,91	6,66	6,28			
2o.	8,o9	7,31	7,7	5,91	6,63	6,27			
28.	8,65	7,83	8,24	6,16	6,82	6,49			
37.	9,34	9,28	9,31	6,7	7,28	6,99			

Tab. 16 : Harnsäure,

Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	4,1	3,65	3,87	3,83	5,41	4,62	4,2	3,7	3,95
2.	4,16	3,7	3,93	3,9	5,48	4,69	4,84	4,24	4,54
3.	4,11	3,68	3,9	3,93	5,5	4,72	6,2	5,7	5,95
4.	4,o1	3,61	3,81	3,79	5,37	4,58	6,3	7,8	7,o5
5.	3,97	3,54	3,75	3,73	5,3	4,51	6,68	6,5	6,59
6.	3,87	3,4	3,63	3,58	5,18	4,38	6,38	6,18	6,28
7.	3,84	3,38	3,61	3,52	5,o1	4,26	6,3	5,9	6,1
8.	3,73	3,25	3,49	3,51	4,98	4,25	-	-	-
1o.	4,o5	3,51	3,78	3,55	5,15	4,35			
12.	4,12	3,52	3,82	3,74	5,2	4,47			
14.	4,11	3,61	3,86	3,65	5,o5	4,35			
16.	4,31	3,71	4,o1	3,8	5,1	4,45			
18.	4,21	3,58	3,9	3,69	5,15	4,42			
2o.	4,45	3,78	4,11	3,62	5,26	4,44			
28.	4,72	3,91	4,31	3,93	5,35	4,64			
37.	5,2	4,65	4,92	4,11	5,55	4,83			

Tab. 17 : Glucose,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (mg%)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	325	368	346	345	35o	348	325	365	345
2.	323	365	344	336	338	337	212	178	195
3.	315	35o	333	328	325	327	162	112	137
4.	3o5	323	314	295	3oo	298	127	91	1o9
5.	283	3o7	295	276	29o	283	1o3	69	86
6.	271	3o6	288	267	28o	274	65	53	59
7.	27o	3o2	286	262	275	268	55	47	51
8.	262	3oo	281	253	269	261	-	-	-
9.	26o	29o	275	25o	258	254			
1o.	257	284	27o	248	253	25o			
12.	244	267	256	234	244	239			
14.	241	263	252	222	24o	231			
16.	235	258	246	22o	23o	225			
18.	226	248	237	213	225	219			
2o.	216	236	226	2o1	215	2o8			
28.	2o2	2o8	2o5	175	191	183			
37.	163	165	164	143	155	149			

Tab. 18 : Lactatdehydrogenase,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (W.E.)

Konserven	1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage 1.	112	1o2	1o7	86	132	1o9	11o	1o5	1o7
2.	138	124	131	1o5	133	119	23o	196	213
3.	188	2o2	195	115	157	136	37o	-	-
4.	226	28o	253	149	169	159	-	-	-
5.	27o	312	291	153	175	164			
6.	328	35o	339	158	214	186			
7.	-	-	-	19o	26o	225			
1o.				28o	354	317			
12.				32o	352	336			
14.				-	-	-			

Tab. 19 : Alkalische Phosphatase,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (K.A.E.)

Konserven		1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage	1.	17,4	1o,2	13,8	8,7	11,o	9,8	17,5	1o,5	14,o
	2.	18,1	1o,9	14,5	9,o	11,4	1o,2	2o,o	12,6	16,3
	3.	18,2	1o,8	14,5	9,o	11,2	1o,1	19,2	13,2	16,2
	4.	17,5	1o,6	14,1	8,4	11,o	9,7	2o,2	18,2	19,2
	5.	19,4	12,o	15,7	9,5	11,5	1o,5	29,4	22,o	25,7
	6.	19,8	12,o	15,9	9,1	12,1	1o,6	41,4	31,o	36,2
	7.	19,8	12,1	16,o	9,1	12,1	1o,6	5o,6	41,8	46,2
	8.	2o,o	12,5	16,2	9,2	12,8	11,o	-	-	-
	9.	21,2	13,7	17,4	9,4	13,3	11,4			
	1o.	23,9	15,6	19,8	1o,6	15,1	12,8			
	12.	25,3	16,5	2o,9	11,9	15,5	13,7			
	14.	28,9	16,o	22,5	11,8	15,o	13,4			
	16.	28,5	17,o	22,7	12,4	15,5	13,9			
	18.	28,8	19,o	23,9	13,o	16,4	14,7			
	2o.	29,o	19,9	24,4	13,5	16,7	15,1			
	28.	32,o	23,8	27,9	15,o	18,6	16,8			
	37.	35,5	31,1	33,3	17,6	21,o	19,3			

Tab. 2o : SGOT ,
Einzelwerte aus 6 Konserven und Mittelwerte A,B,C (K.E.)

Konserven		1	+ 2	= A	3	+ 4	= B	5	+ 6	= C
Tage	1.	23	19	21	17	29	23	24	19	21,5
	2.	25	22	23,5	19	31	25	28	23	25,5
	3.	27	22	24,5	19	32	25,5	31	31	31
	4.	28	25	26,5	18	31	24,5	42	61	51,5
	5.	31	26	28,5	2o	32	26	68	72	7o
	6.	34	32	33	21	37	29	12o	126	123
	7.	36	34	35	23	38	3o,5	142	146	144
	8.	4o	37	38,5	25	4o	32,5	-	-	-
	9.	41	41	41	25	42	33,5			
	1o.	46	43	44,5	28	43	35,5			
	12.	49	47	48	38	48	43			
	14.	55	48	51,5	36	51	43,5			
	16.	62	53	57,5	38	51	44,5			
	18.	66	6o	63	41	54	47,5			
	2o.	68	62	65	43	53	48			
	28.	75	7o	72,5	49	61	55			
	37.	78	75	76,5	52	65	58,5			

VI. Diskussion:

Während der Alterung von konserviertem Blut kommen sehr viele Spiegel der von uns untersuchten Stoffwechselprodukte in Bewegung. Dabei ist festzustellen, daß die Konzentrationen einiger Metaboliten stark ansteigen, von einigen abfallen, und bei anderen keine wesentlichen Veränderungen auftreten. Im folgenden soll eine Zusammenschau der Ergebnisse versucht werden.

Die Metaboliten, die bei $4^{o}C$ ansteigen, sind:

Hämoglobin, Gesamt-Lipide, freie Fettsäuren, Gesamt-Cholesterin, Bilirubin, anorganisches Phosphat, Gesamt-Eiweiß, sowie die Enzyme LDH, alkalische Phosphatase und SGOT.

Andere untersuchte Substanzen erfahren im kalten Milieu keine wesentlichen Konzentrationsänderungen. Das sind

Kalzium, Harnstoff-N, Albumin und Harnsäure.

Bei warmen Temperaturen steigen die meisten Metaboliten in noch stärkerem Maße an, auch dann, wenn bei $4^{o}C$ kaum signifikante Veränderungen zu beobachten sind. Dazu gehören z.B.

Harnstoff-N, Albumin und Harnsäure.

Zu den Substanzen , die während der Alterung bei $4^{o}C$ absinken, gehören veresterte Fettsäuren, freies Glycerin, Gesamt-Glycerin, Neutralfett und Glucose.

Erwartungsgemäß führt eine Erhöhung der Temperatur zu einer Beschleunigung des Abfalls. Schon allein das Studium der Verläufe bei verschiedenen Temperaturen läßt die Zusammenhänge erkennen: die Glucose, die im Konservierungsmittel reichlich enthalten ist, wird verbraucht. Die Glykolyse führt zu einem Milchsäureanstieg (8, 35, 60). Die Zellen schrumpfen zur Stechapfelform oder fallen der Hämolyse zum Opfer (8, 55, 58, 77), was sich im abfallenden Hämatokrit bemerkbar macht. Die zunehmende Hämolyse führt zu einem Austritt des Hämoglobin in das Plasma. Hier wird es offensichtlich umgewandelt, denn der Bilirubinspiegel steigt in Abhängigkeit von der Temperatur.

Die veresterten Fettsäuren werden wahrscheinlich durch die Aktivität einer Lipase gespalten. Auch die Aktivität dieser Lipase scheint temperaturabhängig zu sein, worauf der starke Abfall der veresterten Fettsäuren bei 37°C hindeutet. Dementsprechend steigen die freien Fettsäuren an. Allerdings entspricht der Anstieg in quantitativer Hinsicht nicht dem Abfall der veresterten Fettsäuren. Wahrscheinlich werden die freien Fettsäuren in den Konserven noch metabolisiert oder anderweitig aus der Lösung entfernt. Dafür spricht, daß bei 37°C ein Gipfel der Werte auftritt, worauf ein Abfall bis fast auf die Höhe der Ausgangswerte erfolgt. Auch das freie Glycerin und das Gesamt-Glycerin sowie die daraus errechneten Neutralfette haben deutlich sinkende Tendenz. Das Gesamt-Cholesterin steigt bei 4°C relativ langsam, bei 37°C sehr rasch um rund 500 % an. Wahrscheinlich wird aus den Membranen der Zellen beim Zerfall Cholesterin freigesetzt. Der Anstieg und Abfall sind so gegeneinander ausgewogen, daß die Veränderung der Gesamt-Lipide nur relativ geringfügig ins Auge fallen. Nur bei 37°C kommt es anfänglich zu einer deutlichen Steigerung des Gesamtlipid-Spiegels, der in seiner Bedeutung noch unklar ist.

Die Kalzium-Werte bleiben im wesentlichen unverändert. Sie tendieren bei 4°C wenig und nur bei 37°C deutlicher nach unten. Da Kalzium komplexometrisch bestimmt wurde, kann es zur Bildung schwerlöslicher Kalksalze kommen, die sich der Bestimmung entziehen. Das anorganische Phosphat steigt erwartungsgemäß steil an. Es wird frei bei der Spaltung von Phosphatiden oder anderen phosphorhaltigen Verbindungen, besonders auch des ATP in den Erythrozyten und Thrombozyten.

Gesamt-Eiweiß und in wesentlich geringerem Ausmaß auch das Albumin steigen, gemessen im Autoanalyzer, etwas an. Ebenso steigen die Enzymaktivitäten mit zunehmender Alterung. Durch den Zerfall der Zellen kommt es zu einem Austritt von Enzymen und anderen Zelleiweißkörpern, die dann bei der Biuret-Bestimmung miterfaßt werden. Bei dem geringen Anstieg des Albumin müßte untersucht werden, ob nicht allein ein Farbeffekt, etwa durch ausgetretenes Hämoglobin verursacht, diesen Anstieg vortäuscht.

Harnsäure und Harnstoff-N werden durch die Alterung wenig berührt. Sie bleiben beide innerhalb des Normbereichs. Lediglich bei hohen Temperaturen

steigt die Harnsäure-Konzentration an die obere Normgrenze. Offensichtlich hat konserviertes Blut keine Fähigkeit zur Bildung dieser harnpflichtigen Substanzen, deren Synthese bekanntlich in der Leberzelle abläuft.

Damit fügen sich alle von uns erhobenen Befunde in die Vorstellung ein, die wir vom Ablauf der Alterung von konserviertem Blut erwarten konnten.

Schon im Verlauf der üblichen Lagerungszeit von Blutkonserven unter günstigen Bedingungen machen sich deutliche Veränderungen bei einigen Metaboliten bemerkbar, die noch beträchtlich zunehmen, wenn die Lagerungsbedingungen nicht ideal sind, z.B., wenn das Blut vor der Transfusion längere Zeit bei Raumtemperatur aufbewahrt wurde. Bei Übertragung kleinerer Mengen von konserviertem Blut werden diese Veränderungen ohne Weiteres vom Organismus toleriert. Wie wir eingangs erwähnten, können aber bei Massivtransfusionen erhebliche Komplikationen auftreten. Sie sind wahrscheinlich zum Teil auf die Überschwemmung des Organismus mit Metaboliten in unphysiologischer Zusammensetzung zurückzuführen. Ein vorgeschädigter Organismus kann diese vielleicht nicht mehr tolerieren. Man wird deshalb mehr und mehr zur Hämotherapie nach Maß übergehen, bei der dem Organismus nur die Zellen oder Plasmabestandteile zugeführt werden, die er benötigt. Die von uns vorgelegten Ergebnisse sollen die Transfusionsforschung anregen. Die Konzentration der wichtigsten im ACD-Blut veränderten Metaboliten müßte nach Massivtransfusionen in vivo nachgeprüft werden.

VII. Zusammenfassung

In alternden ACD-Blutkonserven wurden folgende Metaboliten bestimmt: Hämatokrit, Hämoglobin-Gehalt im Plasma, Gesamt-Lipide, unveresterte Fettsäuren, veresterte Fettsäuren, Gesamt-Cholesterin, freies Glycerin, Gesamt-Glycerin, Ester-Glycerin, Neutralfett, Kalzium, anorganisches Phosphat, Gesamt-Bilirubin, Albumin, Gesamt-Protein, Harnsäure, Harnstoff-Stickstoff, Glucose, Lactatdehydrogenase, alkalische Phosphatase, Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase.

Das konservierte Blut wurde bei + 4°C bzw. bei 37°C aufbewahrt und bis zu 44 Tagen auf die genannten Zwischenprodukte des Stoffwechsels geprüft.

Folgende Metaboliten ließen einen Anstieg erkennen: Hämoglobin-Gehalt, Gesamt-Lipide, freie Fettsäuren, Gesamt-Cholesterin, Gesamt-Bilirubin, anorganisches Phosphat, Gesamt-Eiweiß sowie die Enzyme LDH, alkalische Phosphatase, SGOT.

Andere Konzentrationen waren wiederum relativ konstant: Harnstoff-N, Kalzium, Albumin, Harnsäure.

Folgende Meßwerte fielen ab: Hämatokrit, veresterte Fettsäuren, freies Glycerin, Gesamt-Glycerin, Neutralfett und Glucose.

Die Ursachen hierfür wurden diskutiert. Die Abweichungen in der Metaboliten-Konzentration lassen sich alle als Folge von Stoffwechselvorgängen in der alternden Konserve verstehen. Sie können vor allem bei Massivtransfusionen im bereits anderweitig geschädigten Organismus pathogenetische Bedeutung gewinnen. Man muß deshalb auch aufgrund unserer Ergebnisse in Zukunft mehr auf die Hämotherapie nach Maß übergehen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozent Dr. H. Haug für die Überlassung des Themas, seine vielen Ratschläge und seine stete Diskussionsbereitschaft sowie für die Übernahme des Referats.

Herrn Professor Dr. med. H. Franke danke ich für die freundliche Überlassung des Arbeitsplatzes und die Übernahme des Korreferates.

Herrn Dr. med. Gathof danke ich für die Überlassung der von uns untersuchten Blutkonserven.

Literaturverzeichnis

1. Biochemica "Boehringer" C.F. Boehringer u. Söhne, Mannheim
Allgemeines zur Ausführung enzymatischer Testmethoden.

2. BLUM, K.-U. Stoffwechselveränderungen bei Lagerung von Blut. Ergebnisse der Bluttransfusionforschung VI, 20-57 Karger, Basel/New York 1961

3. BLUM, K.-U. Der Stoffwechsel menschlicher Erythrozyten. Blut XI, 90-101 (1965)

4. Das Bluttransfusionswesen. Herausgegeben von der Deutschen Gesellschaft für Bluttransfusion. Stuttgart 1963.

5. BÖHLE, E., E. HARMUTH und C. van OORDT Untersuchungen über das Verhalten der unveresterten Fettsäuren des Blutserums nach Zufuhr verschiedener Nahrungsfette. Klin. Wschr. 42, 95-102 (1964)

6. BUSCH, H. Die Bedeutung des Stabilisators für die Stoffwechselvorgänge in der Blutkonserve unter besonderer Berücksichtigung der Elektrolytverschiebung. Ergebn. d. Bluttransfusionsforschung V, 70-78 Karger, Basel/New York 1960

7. DAACKE von, H.J. Normalwerte für die Serum-Lipidfraktionen. Med. Klin. 62, 131-135 (1967)

8. DEPPE, H.-U. Über den Einfluß von ATP auf konserviertes Blut und Plasma. Dissertation, Würzburg 1965

9. DISCHE, Z.: Phosphorylierung der im Adenosin enthaltenen d-Ribose und nachfolgender Zerfall des Esters unter Triosephosphatbildung im Blute. Naturwissenschaften 26, 252-253 (1938)

10. DISCHE, Z. Synthesis of hexosemono- and -diphosphate from adenosine and ribose-5-phosphate in human blood.
Sympos. on Phosphorus metabolism, Johns Hopkins University 1, 171 (1951)

11. DUNCOMBE, W.G.: The colorimetric micro-determination of non-esterified acids in plasma. Clin. Chim. Acta 9, 122 (1964)

12. EBERHAGEN, D. — Betrachtungen zur Bestimmung des Cholesterins im klinisch-chemischen Laboratorium. Z.klin.Chem.u. klin.Biochem. 7, 167-174 (1969)

13. EGGSTEIN, M. — Die Neutralfettberechnung für Blutserum als Differenz aus Fettsäureesterwert und Lipoid-Fettsäuren. Klin.Wschr. 43, 1031-1038, (1965)

14. EGGSTEIN, M. u. F.H. KREUTZ — Enzymatische Bestimmung der Neutralfette im Blutserum. Ergebn.Labor.Med. 2, 99-103 (1965)

15. EGGSTEIN, M. — Quantitative Bestimmung der Fettsäure-Ester im Blutserum. Z.klin.Chem. 4, 12-21 (1966)

16. EGGSTEIN, M. u. F.H. KREUTZ — Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. I. Mitteilung Klin.Wschr. 44, 262-267 (1966)

17. EGGSTEIN, M. — Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum u. Gewebe. II. Mitteilung Klin.Wschr. 44, 267-273 (1966)

18. EGGSTEIN, M., R. ALLNER, E. KUHLMANN, u. W. KNODEL — Vergleich von Autonalyzer-Daten mit nach konventioneller Technik bestimmten klinisch-chemischen Werten. Klin.Wschr. 44, 424-430 (1966)

19. EGGSTEIN, M. — Bestimmung und Bedeutung der Neutralfette, Fettsäuren und Fettmetaboliten des Blutes. Dtsch.Med.J. 19, 12-14 (1968)

20. ENGLHARDT, A. — Untersuchungen des Lipidstoffwechsels. Ärzt.Laboratorium 15, 27-30 (1969)

21. — Erythrozyten-Antigene und Antikörper Vortrag Ärztliche Fortbildung, Augsburg 1968

22. FERBER, E. u. H. FISCHER — Untersuchungen zur verbesserten Zellkonservierung. III. Mitteilung. Klin.Wschr. 41, 427-433 (1963)

23. FISCHER, H., E.FERBER, W. FRITZSCHE, F.WOSEGIEN, W.SPIELMANN — Erythrozytenstoffwechsel und Blutkonservierung. Ergebn.d.Bluttransfusionsforschung VI, 76-91, Karger, Basel/New York 1961

24. FISCHER, H. — Überlegungen zur verbesserten Konservierung von Erythrozyten. Fol. haemat. 78, 356 (1962)

25. FISCHER, H., E. FERBER, W. FRITZSCHE, H.G. SIEDENTOPF u. W. SPIELMANN — Preservation of human blood in the liquid state; the practical importance of some new media. Vortrag Kongreß Internat. Ges. Bluttransfusion, Stockholm 1964

26. FRIED, R. u. J. HOEFLMAYR — Vereinfachte Methode zur Bestimmung der veresterten Fettsäuren im Serum. Klin. Wschr. 41, 727-728 (1963)

27. FRITZSCHE, W.: — Die Bedeutung des Hexosemonophosphatshunts für die Hämiglobinreduktion konservierter Erythrozyten. Vortrag 8. Kongreß der Europäischen Gesellschaft für Hämatologie, Wien 1961

28. FRITZSCHE, W., WOSEGIEN, F. u. H. FISCHER — Untersuchungen zur verbesserten Zellkonservierung. II. Mitteilung Blut 10, 13-25 (1964)

29. FRITZSCHE, W., SIEDENTOPF, H.G. u. W. SPIELMANN — Untersuchungen zur verbesserten Zellkonservierung. IV. Mitteilung. Klin. Wschr. 43, 881-887 (1965)

30. FÜHR, J. u. E. STARY — Automatische Bestimmung der alkalischen Phosphatase (mit dem Technicon-Autoanalyzer) Ärztl. Laboratorium 15, 55-60 (1969)

31. FÜHR, J. u. E. STARY — Cholesterinbestimmung mit dem Autoanalyzer. Ärztl. Laboratorium 15, 259-262 (1969)

32. GABRIO, B.W. u. C.A. FINCH — Erythrocyte preservation. I. The relation of the storage lesion to "in vivo" erythrocyte senescence. J. clin. Invest. 33, 242 (1954)

33. GABRIO, B.W., C.A. FINCH, u. F.M. HUENNEKENS — Erythrocyte preservation: A topic in molecular biochemistry. Blood 11, 103 (1956)

34. GEIGY — Wissenschaftliche Tabellen.

35. GÜNTHER, J.: — Über den Einfluß des Ferment-Inhibitors Trasylol auf konserviertes Blut. Dissertation, Würzburg 1967

36. HARDING, U. u. G. HEINZEL: Vollautomatische enzymatische Bestimmung des freien Glycerins im Blut mit dem Autoanalyzer. Z.klin.Chem.u.klin.Biochem. 7, 356-360 (1969)

37. HAUG, H. u. A. GATHOF: On some enzyme reactions in plasma following hemolysis and during aging of preserved blood. 9. Kongreß der Europ. Gesellschaft für Hämatologie (Lissabon 1963)

38. HEIM, W. u. W. HASSE: Über nicht blutgruppenmäßig bedingte Transfusionszwischenfälle nach Übertragung von Konservenblut. Ergebn.d.Bluttransfusionsforschung III, 183-192, Karger, Basel/New York 1957

39. HOEFLMAYR, J. u. R. FRIED: Erkennung von Fettstoffwechselstörungen. 1. Mitteilung: Gesamtlipide im Serum. Med. Klin. 62, 1323-1325 (1967)

40. HOEFLMAYR, J. u. R.FRIED: Erkennung von Fettstoffwechselstörungen. 2. Mitteilung: Gesamtcholesterin, freies und verestertes Cholesterin. Med.Klin. 64, 1320-1323 (1969)

41. HOFER, O., E. REICHENBACH, T. SPRETER v. KREUDENSTEIN E. WANNENMACHER: Lehrbuch der klin. Zahn-, Mund- u. Kieferheilkunde. Bd. I, 1968

42. HOFFMANN, D. u. H.J. RADEBRECHT: Vergleichende Untersuchungen zwischen ACD-Vollblutkonserven, Erythrozytenkonzentrat und Erythrozytenresuspensionen. Folia haematologica 85, 149-156 (1966)

43. JAHNKE, K. u. M. HERBERG: Zur Methode der Neutralfettbestimmung im Serum. Ärztl. Laboratorium 15, 201-208 (1969)

44. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 1961

45. KREUTZ, F.H.: Enzymatische Glycerinbestimmung. Klin.Wschr. 40, 362-363 (1962)

46. KRÖGER, E.: Zur Sterilisation und Sterilitätsprüfung von Blutkonservenflaschen. Ergebn.d.Bluttransfusionsforschung III, 196-205 Karger, Basel/New York 1957

47. LEVINE, J., S. MORGENSTERN u. D. VLASTELICA — Technicon Symposium "Automation in Analytical Chemistry" New York 1967

48. LÖHR, G.W., H.D. WALLER u. O. KARGES — Quantitative Fermentbestimmungen in roten Blutzellen. Klin.Wschr. 35, 871-875 (1957)

49. LÖHR, G.W., H.D.WALLER, O.KARGES, B.Schlegel, A.A. MÜLLER — Zur Biochemie der Alterung menschlicher Erythrozyten. Klin.Wschr. 36, 1008-1013 (1958)

50. LÖHR, G.W. u. H.D. WALLER — Zellstoffwechsel und Zellalterung Klin.Wschr. 37, 833-843 (1959)

51. LOFLAND, J. — Technicon Automation Analytical 1963

52. N.N. — Adenin-Stabilisator bei der Blutkonservierung: Lebensdauer nach der Transfusion und biochemische Veränderungen. Übersetzung aus Transfusion 4, 331-338 (1964)

53. NAKAO, M., T.NAKAO, M. TATIBANA, H. YOSHIKAWA u. T. ABE — Effect of inosine and adenine on adenosine triphosphate regeneration and shape transformation in long-stored erythrocytes. Biochem.biophys.Acta 32, 546 (1959)

54. NAKAO, M. T. NAKAO, Y. ARIMATSU u. H. YOSHIKAWA — A new preservative medium maintaining the level of ATP and the osmotic resistance of erythrocyte. Proc, Japan Acad. 36, 43 (1960)

55. NAKAO, M., M. TATIBANA u. H. YOSHIKAWA — Phosphorus metabolism in human erythrocytes. IV. Destruction of adenine nucleotides in stored blood. J. Biochem. (Tokyo) 48, 672 (1960)

56. OCKEL, E., S. RAPOPORT, H. HINTERBERGER u. W. GERISCHER-MOTHES — Die pH-Abhängigkeit der anaeroben Glykolyse und der Hexokinase. III. Intern. Symp. Berlin 1960, Folia haematologica 78, 209(1962)

57. PEARSON, S., S. STERN u. T.H. McGAVACK — A rapid accurate method for the determination of total cholesterol in serum. Analyt. Chem. 25, 813 (1953)

58. PRANKERD, T.A.J. u. K.I. ALTMAN — A study of the metabolism of phosphorus in mammalian red cells. Biochem.J. 58, 622 (1954)

59. PRINS, H.K. u. H.W.KRIJNEN — Die Probleme der Tieftemperatur-Blutkonservierung. Folia haematologica 91, 98-108 (1969)

60. PUSCH, H.-J. — Vergleichende Stoffwechseluntersuchungen an konserviertem Blut und Plasma. Dissertation, Würzburg 1965

61. RADEBRECHT, H.J. — Versuche zu einigen Problemen der Zellkonservierung. Folia haematologica 91, 132-141 (1969)

62. RAPOPORT, S., HINTERBERGER, U. u. E.C.G. HOFMANN — Die begrenzende Rolle der Hexokinase-Reaktion für die anaerobe Glykolyse der roten Blutzellen. Naturwissenschaften 48, 501-502 (1961)

63. RAPOPORT, S. — Reifung und Alterungsvorgänge in Erythrozyten. III. Intern. Symp. Berlin 1960 Fol. haemat. 78, 96-114 (1962)

64. REIN, H. u. M. SCHNEIDER — Einführung in die Physiologie des Menschen. Springer-Verlag 1960

65. RICHTERICH, R. u. K. LAUBER — Bestimmung des Gesamtcholesterins im Serum. Klin.Wschr. 40, 1252-1256 (1962)

66. ROUS, P. u. J.R. TURNER — The preservation of living red cells in vitro. J.exper.Med. 23, 219 (1916)

67. RUBINSTEIN, D., Sh.KASHKET u. O.F. DENSTEDT — Studies on the preservation of blood. VI. The influence of adenosine and inosine on the metabolism of the erythrocyte. Canad. J.Biochem. 36, 1269 (1958)

68. SCHILY, EGGSTEIN, KNODEL, ALLNER, HENIG, u. KUHLMANN — Erfahrungen mit dem Technicon SMA 12. Z.klin.Chem. u.klin.Biochem. 7, 66-71 (1969)

69. SCHMITT, H. — Läßt sich die Lagerungsfähigkeit von Blut durch Nukleoside verlängern? Ergebn.d. Bluttransfusionsforschung VI, 94-104, Karger, Basel/New York 1961

70. SCHÖN, H. — Die Fettbestimmung im Serum. Laboratoriumsmedizinische Hefte 3, (1957)

71. SITZMANN, F.C. — Untersuchungen mit der Ultramikromethode zur quantitativen Bestimmung des Serumcholesterins. Klin.Wschr. 42, 1030-1032 (1964)

72. SPIELMANN, W. — Bericht über den 6. Kongreß der Intern. Gesellschaft f. Bluttransfusion. Boston 1956. Ergebn.d.Bluttransfusionsforschung III, 255-261, Karger, Basel/New York 1957

73. SPIELMANN, W. — Transfusionskunde. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1967

74. SPIELMANN, W. — Überlebenszeitbestimmungen an IAG-konserviertem Blut. Folia haematologica 91, 151-155 (1969)

75. — Testfibel. C.F. Boehringer u. Söhne, Mannheim 1966. Glycerin und Neutralfett

76. — Therapeutische Berichte: Stoffwechselkrankheiten neue Aspekte,Bayer, Heft 1 (1969)

77. TREUTLEIN, E. — Über alterungsabhängige Stoffwechselveränderungen in Blutkonserven bei 4°C und 37°C unter besonderer Berücksichtigung von Adenosinphosphorsäuren. Dissertation, Würzburg 1965

78. WARBURG, O., F. KUBOWITZ u. W. CHRISTIAN — Über die katalytische Wirkung von Methylenblau in lebenden Zellen. Biochem. Z. 227, 245-255 (1930)

79. WATSON, D. — A simple method for the determination of serum cholesterol. Clin.chim.Acta 5, 637 (1960)

80. WIENHÖWER, R. — Über das Verhalten zellulärer Enzyme in der Blutkonserve. Dissertation, Würzburg 1966

81. WILLENEGGER, H. — Historisches und Grundsätzliches zur Frage des idealen Stabilisators. Ergebn.d.Bluttransfusionsforschung V, 4-15 Karger, Basel/New York 1960

82. WOLLHEIM, E. — Bluttransfusion und Blutmenge. Ergebn.d. Bluttransfusionsforschung III, 73-85 Karger, Basel/New York 1957

83. WOSEGIEN, F., K. DOSE u. H. Fischer — Untersuchungen zur verbesserten Zellkonservierung. I. Mitteilung, Klin.Wschr. 40, 589-594 (1962)

84. YOSHIKAWA, H. u. M. NAKAO
Nucleotide metabolism and its relation to functions of preserved human erythrocytes. Fol. haemat. 78, 248 (1962)

85. ZENKER, R., H.G. BORST u. W. KLINNER
Fortschritte auf dem Gebiete der Herzchirurgie. Dtsch. med. Wschr. 89, 2033-2035 (1964)

86. ZÖLLNER, N. u. K. KIRSCH
Über die quantitative Bestimmung von Lipoiden mittels der vielen natürlichen Lipoiden (allen bekannten Plasmalipoiden) gemeinsamen Sulfophosphovanillin-Reaktion. Z. ges. exp. Med. 135, 545-561 (1962)

87. ZÖLLNER, N. u. D. EBERHAGEN
Untersuchung und Bestimmung der Lipoide im Blut. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, New York 1965

Lebenslauf

Am 2.7.1940 wurde ich als Sohn des Dr. med. Gerd Mülverstedt und seiner Ehefrau Anke, geb. Heinrichs, in Stendal/Altmark geboren und besuchte dort bis 1950 die Grundschule. Bis 1953 lebten wir in Salzwedel. In den folgenden Jahren besuchte ich die Oberrealschule in Oberstdorf/Allgäu, das Ratsgymnasium in Osnabrück und legte im Februar 1963 am Gymnasium Melle die Reifeprüfung ab.
Im Sommersemester 1963 begann ich in Würzburg mit dem Studium der Zahnmedizin. 1966 beendete ich das vorklinische Studium.
Im Sommer 1969 legte ich die zahnärztliche Prüfung ab und erhielt mit dem 12. September 1969 die Approbation. Seit Herbst 1969 bin ich wissenschaftlicher Assistent in der prothetischen Abteilung der Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsmittel benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Gerd Mülverstedt

DRUCK: BÖHLER KG, 87 WÜRZBURG, Wirsbergstr. 10